



UNIVERSITÀ DI PISA

Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale

Dipartimento di Patologia Chirurgica, Medica, Molecolare e dell'Area Critica

Dipartimento di Ricerca Traslationale e delle Nuove Tecnologie in Medicina e Chirurgia

Scuola di Specializzazione in Gastroenterologia

TITOLO DELLA TESI

*Utilizzo dei test provocativi a basso volume durante la
valutazione manometrica ad alta risoluzione in pazienti
affetti da malattia da reflusso gastroesofageo*

Relatore:

Chiar.mo Prof. Santino MARCHI

Candidato:

Irene MARTINUCCI

Anno Accademico 2013-2014

INDICE

	Pagina
Prefazione	2
Malattia da reflusso gastroesofageo	3
Definizione	4
Epidemiologia	6
Fisiopatologia	7
Studio fisiopatologico della GERD: nuove metodiche diagnostiche e loro applicazioni cliniche	15
pH-Impedenziometria esofagea multicanale	16
Applicazioni cliniche della MII-pH in pazienti con GERD	20
Manometria esofagea ad alta risoluzione	24
Applicazioni cliniche dello studio HRM in pazienti con GERD	27
Studio clinico	29
Introduzione e obiettivi dello studio	30
Materiali e metodi	31
Metodo statistico	35
Risultati	35
Discussione	41
Bibliografia	46

PREFAZIONE

La manometria esofagea ad alta risoluzione con l'analisi topografica dei dati pressori è stata introdotta da Ray Clouse nel 1998 per la valutazione della motilità esofagea. Tuttavia, solo dopo l'avvento, nel 2006, dei cateteri allo stato solido è esploso l'interesse per le sue applicazioni in ambito clinico. In particolare, nell'ambito della malattia da reflusso gastroesofageo, l'utilizzo crescente di questa metodica ha permesso una valutazione più precisa e dettagliata dei meccanismi fisiopatologici coinvolti nello sviluppo degli eventi di reflusso e della sintomatologia ad essi correlata. Infine, recenti evidenze hanno sottolineato la possibilità di eseguire test provocativi al fine di facilitare la descrizione e interpretazione della motilità esofagea nel suo complesso, slatentizzando l'eventuale presenza di alterazioni non specifiche e intermittenti.

Il contenuto della presente tesi di specializzazione è suddiviso in tre sezioni principali:

1. Stato dell'arte riguardo la malattia da reflusso gastroesofageo, includendo definizioni, epidemiologia, fisiopatologia.
2. Descrizione delle nuove metodiche esofagee, pH-impedenziometria e manometria ad alta risoluzione, utilizzate per lo studio fisiopatologico della malattia da reflusso gastroesofageo. Questa sezione riassume le principali informazioni riguardo le tecniche di studio e il progresso apportato da tali applicazioni nella gestione dell'iter diagnostico e terapeutico di questi pazienti.
3. Studio clinico prospettico finalizzato a valutare la risposta motoria dell'esofago a un test provocativo a basso volume, durante l'esecuzione di manometria ad alta risoluzione, in pazienti con pirosi retrosternale ed endoscopia negativa.

MALATTIA DA REFLUSSO GASTROESOFAGEO

DEFINIZIONE

La patologia da reflusso gastroesofageo (GERD) è definita come il passaggio di materiale gastrico in esofago che determina sintomi fastidiosi e/o complicanze.¹ In accordo con tale definizione, proposta nel 2006 durante il Congresso Mondiale di Gastroenterologia di Montreal, le lesioni esofagee (erosioni, ulcerazioni, metaplasia intestinale) non sono necessarie per la diagnosi della patologia. Infatti, la maggior parte dei pazienti con GERD lamenta sintomi in assenza di alcuna anormalità della mucosa all'esame endoscopico. Tale sottogruppo è generalmente definito affetto da malattia da reflusso non-erosiva (NERD).¹ Nel 2009, la Consensus Group di Vevey ha elaborato una nuova definizione di NERD in cui viene specificata la necessità di eseguire l'esame endoscopico in assenza di recente assunzione di terapia acido-soppressiva.² I pazienti con NERD rappresentano circa il 70% della popolazione di pazienti con GERD, mentre il restante 30% presenta erosioni della mucosa esofagea visibili all'esame endoscopico (ERD).^{1,2}

I sintomi tipici da reflusso sono la piroisi retrosternale e il rigurgito. Il primo rappresenta il sintomo predominante della GERD ed è caratterizzato da una sensazione di dolore urente di complessiva breve durata (alcuni minuti). In particolare, alcuni pazienti percepiscono gli episodi di reflusso come dolore toracico simil-anginoso. Il rigurgito è definito come il passaggio retrogrado di materiale gastrico verso la cavità orale, non associato a nausea né conati di vomito.¹ Sebbene tale sintomatologia venga principalmente riferita durante le ore diurne, in particolare dopo i pasti, può anche presentarsi durante le ore del riposo notturno. Il reflusso notturno è frequentemente associato con la presenza di esofagite severa e metaplasia intestinale (esofago di Barrett) e può determinare disturbi del sonno.³

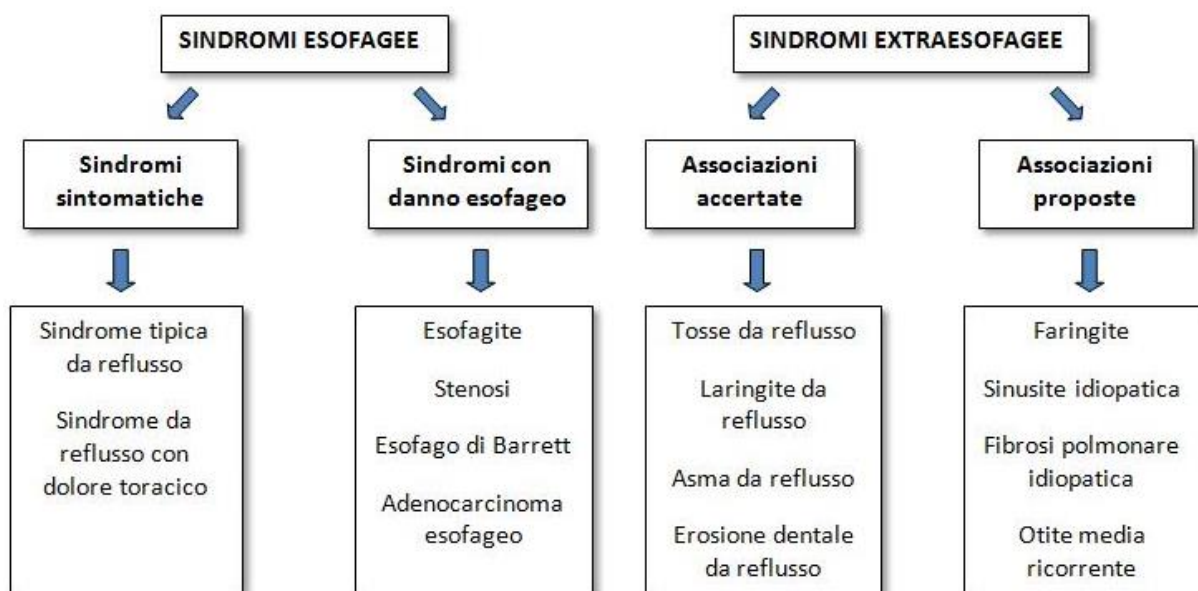
È importante notare che alcuni pazienti pur lamentando piroisi retrosternale non sono affetti da GERD ma piuttosto hanno una sindrome denominata piroisi funzionale (FH). Infatti, nel 2006, la classificazione di Roma III dei disturbi funzionali dell'esofago ha definito i pazienti con normale esposizione dell'esofago all'acido, associazione negativa fra sintomi e reflussi acidi e

risposta insoddisfacente alla terapia con inibitori di pompa protonica (PPIs), come affetti da FH, escludendo così questo sottogruppo di pazienti dal regno della GERD.⁴

Oltre alla sintomatologia tipica da reflusso, possono manifestarsi sintomi atipici, esofagei ed extra-esofagei, come disfagia, raucedine, disfonia, globo. In particolare, è stato evidenziato che alcune sindromi extra-esofagee fra cui la tosse cronica, la laringite cronica e l'asma sono significativamente associate con la GERD (Figura 1) ma anche che queste sono condizioni patologiche multifattoriali in cui la GERD può rappresentare un cofattore aggravante e raramente è la loro unica causa. Inoltre, sebbene esistano evidenze sufficienti a supportare un'associazione fra questi sintomi e la GERD, stabilire se i sintomi extra-esofagei di un paziente siano causati dal reflusso gastroesofageo risulta complicato. Attualmente permangono ancora incertezze riguardo la possibilità della GERD di causare faringiti, sinusiti, fibrosi polmonare, otite media ricorrente e apnee notturne.¹

Figura 1: La classificazione di Montreal della malattia da reflusso gastroesofageo (GERD)

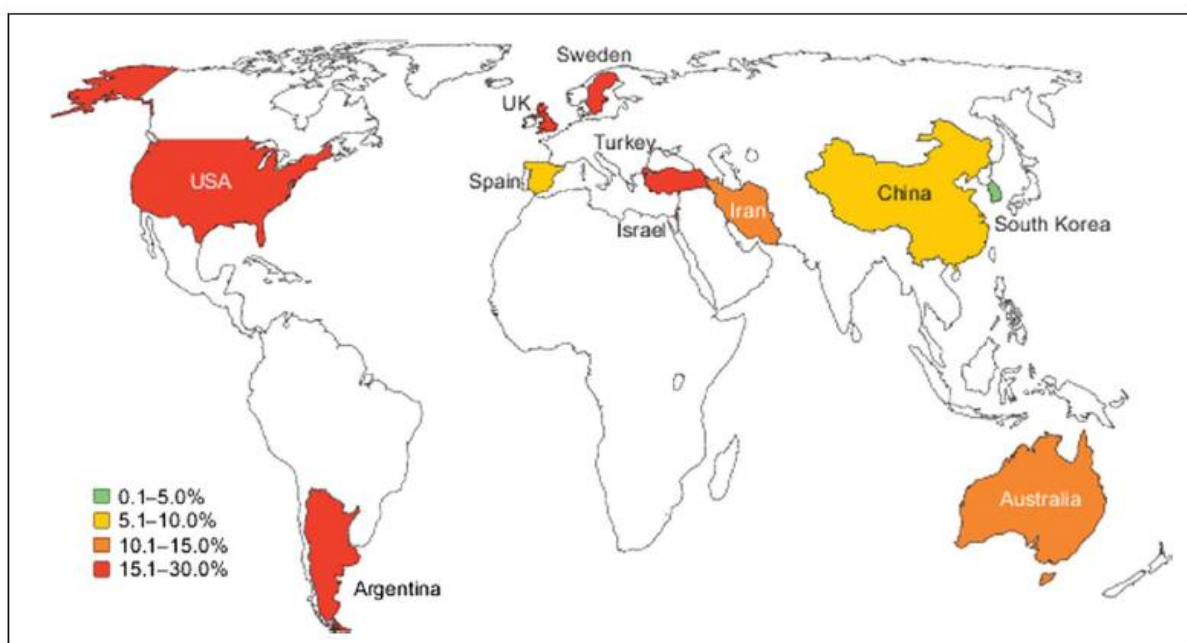
(modificato da Vakil et al.¹)



EPIDEMIOLOGIA

Nei paesi occidentali, la prevalenza della GERD (definita come la presenza di pirosi retrosternale e/o rigurgito almeno una volta a settimana, o in accordo con la definizione di Montreal) è circa il 10-20%, mentre in Asia tale prevalenza scende a circa il 5%.⁵ In particolare, dati raccolti da studi di popolazione indicano una prevalenza del 18.1-27.8% in Nord America, 8.8-25.9% in Europa, 23% in Sud America, 11.6% in Australia, 8.7-33.1% nel Medio Oriente, e 2.5-7.8% in Asia orientale (Figura 2).⁵ Inoltre, è rilevante notare che la prevalenza della GERD è circa il 50% più alta in USA, Europa e Asia orientale negli studi condotti dopo il 1995 rispetto a quelli condotti prima del 1995.⁵

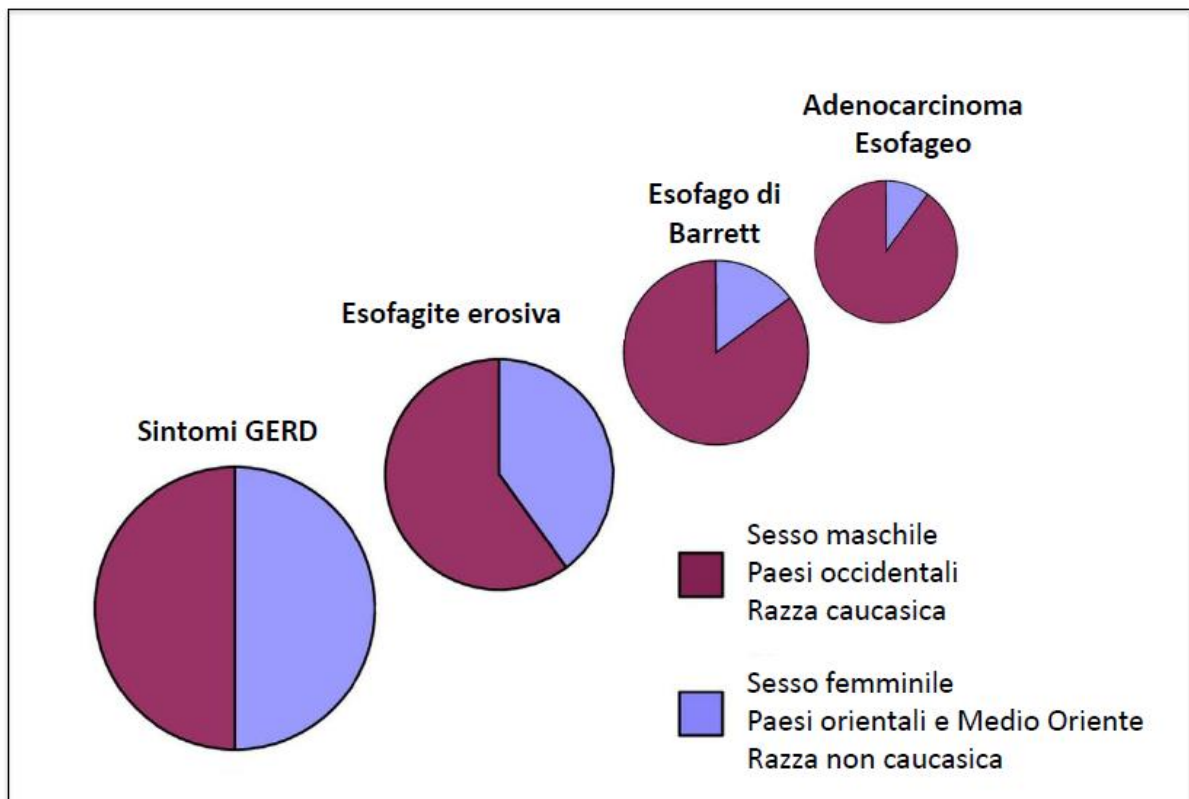
Figura 2: Distribuzione globale della prevalenza della malattia da reflusso gastroesofageo (valutata su prevalenza di pirosi retrosternale e/o rigurgito almeno settimanali) nei paesi dove sono disponibili dati da studi clinici di popolazione (review sistematica di El-Serag et al.⁵)



Esistono importanti variazioni nella distribuzione della GERD e delle sue complicanze rispetto al sesso, alle regioni geografiche e alla razza (Figura 3).⁶ Simili proporzioni di uomini e donne riferiscono sintomi da reflusso, tuttavia proporzioni più ampie di uomini sono affetti da ERD (

≈60%), esofago di Barrett (≈70%) e adenocarcinoma esofageo (≈80%). Similmente, le prevalenze di ERD, esofago di Barrett e adenocarcinoma esofageo sono notevolmente più basse in Asia orientale.⁷

Figura 3: Rappresentazione schematica di dati epidemiologici nella malattia da reflusso gastroesofageo (GERD) e sue complicanze (modificato da Boeckxstaens et al.⁶)

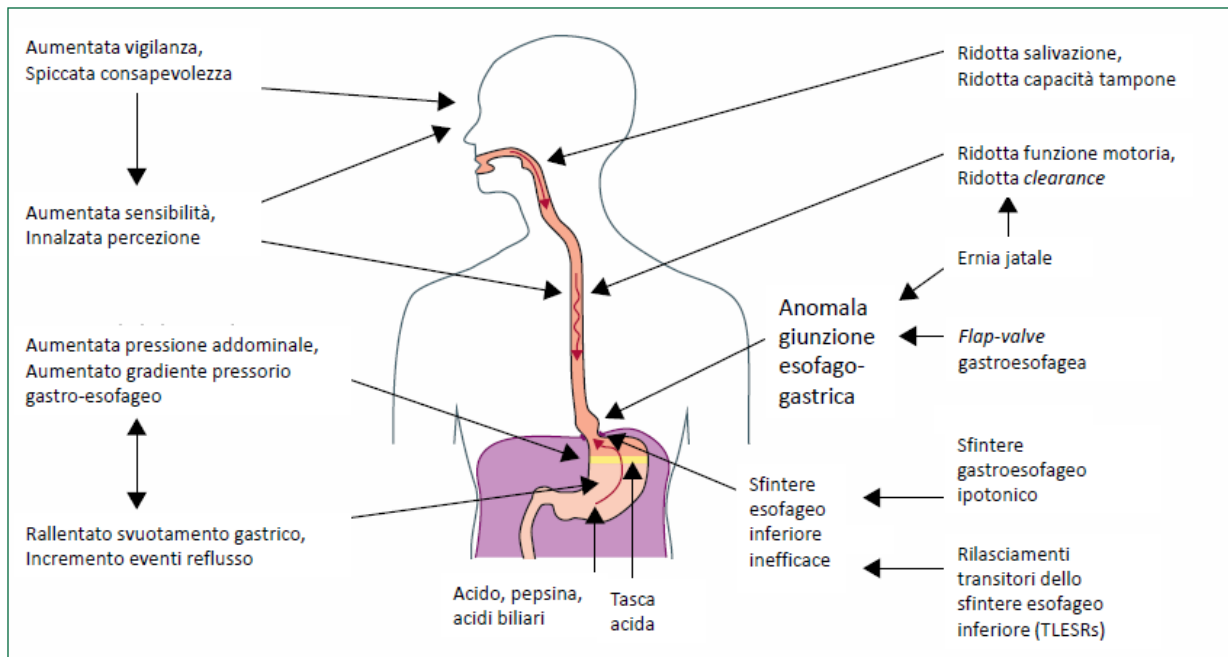


FISIOPATOLOGIA

L'eziopatogenesi della GERD è considerata idiopatica nel 90% dei casi; le forme secondarie ad altre patologie (ad esempio collagenopatie, obesità, malattie endocrino-metaboliche), a terapie farmacologiche (calcioantagonisti, nitrati, progesterone) o ad abitudini di vita (fumo, abuso di alcol) costituiscono il restante 10%.⁸ In generale, la GERD è una patologia multifattoriale (Figura 4) le cui alterazioni fisiopatologiche incrementano parallelamente con la severità della

malattia. Infatti, nello spettro della GERD, è noto come le alterazioni rilevate nei pazienti NERD siano maggiori di quelle dei volontari sani ma minori di quelle dei pazienti con ERD o esofago di Barrett.^{9,10}

Figura 4: Rappresentazione dei meccanismi fisiopatologici della malattia da reflusso gastroesofageo (modificato da Bredenoord et al.¹¹)



Disfunzione della giunzione esofagogastrica

Tre componenti costituiscono la giunzione esofagogastrica (EGJ) e funzionano come barriera antireflusso: lo sfintere esofageo inferiore (LES), il diaframma crurale (CD), e la “flap valve” anatomica.

Il LES è un segmento di 3-4 cm nella porzione terminale dell’esofago costituito da muscolatura liscia circolare tonicamente contratta. Tale sfintere si rilascia solo durante gli atti deglutitori, le onde di peristalsi secondaria e durante i cosiddetti rilasciamenti transitori del LES (TLESRs). Il tono basale di questa muscolatura può variare negli individui sani da 10 a 35 mmHg relativi alla pressione intragastrica. Inoltre, avvengono variazioni nel tempo dopo i pasti, attività fisica, e riposo notturno.¹² In un piccolo numero di pazienti con GERD si ha una permanente bassa

pressione del LES (< 10 mmHg), frequentemente associata a esofagiti severe o complicanze.⁸ Ciononostante, la causa più comune che determina il reflusso gastroesofageo sono i TLESRs, che sono indipendenti dagli atti deglutitori. Tali eventi sono il risultato di un riflesso vagale che è innescato dalla distensione gastrica per permettere al gas di fuoriuscire dallo stomaco. Il meccanismo che avviene durante tali rilasciamenti e permette fisiologicamente all'aria di fuoriuscire, ma non al fluido, rimane da chiarire. Durante un TLESR si verifica il rilasciamento completo dello sfintere intrinseco seguito dalla contrazione della muscolatura liscia longitudinale dell'esofago che determina la risalita in senso prossimale della EGJ (circa 2-8 cm in cavità toracica), formando, così, una temporanea ernia iatale. In media, un TLESR persiste per circa 20 s, un tempo significativamente più lungo dei tipici rilasciamenti indotti da deglutizioni.¹³

Il pilastro destro del CD circonda l'esofago distale, creando un canale iatale a forma di goccia. Tale struttura agisce come uno sfintere estrinseco aumentando la zona di alta pressione del LES.^{14,15} Durante i TLESRs, si verifica la perdita temporanea anche dell'attività del CD.¹⁶

Nei soggetti sani è presente un angolo acuto verso sinistra al passaggio fra esofago addominale e stomaco (angolo di His) che crea una piega della parete che sporge e si aggetta nella cavità dello stomaco, simile al lembo di una valvola (flap valve), che ha la funzione di mantenere la parte distale del LES in addome.¹⁷ Nel caso in cui si verificano alterazioni della valvola e il LES si dislochi sopra il canale crurale, la zona di alta pressione perderà la sua configurazione sinergistica ed entrambi gli sfinteri (LES e CD) diverranno apprezzabilmente più deboli.¹⁸

Riassumendo, quindi, la EGJ è strutturalmente e funzionalmente designata per assicurare che le secrezioni dalla mucosa gastrica più prossimale defluiscano verso lo stomaco e non prossimalmente verso l'epitelio squamoso esofageo. Lo stesso meccanismo protettivo vale nei confronti del succo gastrico e del cibo ingerito, presente nello stomaco dopo un pasto.¹⁹

Ernia iatale

La presenza di ernia iatale consiste in un dislocamento prossimale del LES che, così, si colloca alcuni centimetri prossimalmente allo iato diaframmatico. La porzione prossimale dello stomaco risale quindi in cavità toracica, formando un sacco erniario.²⁰

L'ernia iatale può essere causa di reflusso gastroesofageo attraverso diversi meccanismi: alterata clearance esofagea; ri-reflusso dal sacco erniario in seguito a onde peristaltiche di deglutizione; intrappolamento di acido nel sacco erniario; perdita della flap valve; aumento del diametro dello iato diaframmatico permettendo un aumentato flusso retrogrado; riduzione della pressione dello sfintere durante gli sforzi.¹⁸

Disfunzione del corpo esofageo

La presenza di un tempo di clearance acida prolungato correla sia con la severità dell'esofagite che con il riscontro di esofago di Barrett.²¹ La clearance acida inizia con la peristalsi che svuota l'esofago dal materiale refluito ed è completata dal tamponamento dell'acido residuo con la deglutizione di saliva. Perciò, la funzione della peristalsi rappresenta un importante meccanismo di difesa contro la GERD. È stata infatti descritta una relazione fra l'alterazione della peristalsi e la presenza di esofagite.²² Assumono particolare importanza le contrazioni peristaltiche fallite e ipotensive (< 30 mmHg) che determinano uno svuotamento incompleto.²³ Nei pazienti NERD, gli studi fisiopatologici hanno rivelato minime anomalie motorie dell'esofago.²⁴ Sia la peristalsi primaria che secondaria, così come l'ampiezza delle contrazioni, sono solo lievemente ridotte in pazienti NERD rispetto ai volontari sani.²⁵ Uno studio, in particolare, ha confermato che le alterazioni motorie non sono predominanti nella NERD e tendono a incrementare con la severità dei vari gruppi di GERD.²⁶

Svuotamento gastrico rallentato

In una review sistematica, il tasso complessivo di svuotamento gastrico era ritardato in pazienti con GERD rispetto ai volontari sani, in particolare tale tasso era fuori dai valori di normalità in circa un terzo dei pazienti.²⁷ Comunque, in tale studio non è stata osservata una correlazione fra la presenza di svuotamento gastrico rallentato e l'incremento del reflusso, suggerendo quindi che le alterazioni dello svuotamento gastrico non sono un aspetto determinante per lo sviluppo di GERD.²⁷

Il rilasciamento postprandiale dello stomaco prossimale è incrementato o prolungato nella GERD e questa anormalità è associata con la permanenza del chimo nello stomaco prossimale. Una correlazione positiva è stata osservata fra il rallentato svuotamento dello stomaco prossimale (non distale né totale) e l'esposizione acida dell'esofago.²⁸

Incremento della pressione intragastrica

Affinché si verifichi un evento di reflusso la pressione nello stomaco prossimale deve superare quella esofagea. Il gradiente di pressione gastroesofagea è temporaneamente amplificato durante le attività che conducono ad un innalzamento della pressione addominale, come ad esempio durante la fase inspiratoria del respiro o in occasione di tosse o sforzi. Per prevenire il flusso retrogrado di contenuto gastrico verso l'esofago, è importante che il punto di picco pressorio del LES sia subito prossimalmente alla mucosa gastrica. Inoltre, durante l'inspirazione o quando si verificano improvvisi incrementi della pressione intraddominale, avviene anche una contrazione riflessa del CD.¹⁹ Un gradiente di pressione cronicamente aumentato è presente durante la gravidanza o in condizioni di sovrappeso e obesità. Infatti, evidenze mostrano in modo incontrovertibile che l'obesità aumenta il rischio di sintomi da reflusso, di una prolungata esposizione dell'esofago all'acido, di ERD ed esofago di Barrett,^{29,30} e che l'aumento della pressione addominale rappresenta il meccanismo principale.³¹

La tasca acida

La maggior parte dei pasti ha un effetto di tamponamento che determina una riduzione dell'acidità gastrica nella fase postprandiale. Comunque, il reflusso acido (valutato con il monitoraggio di pH) è generalmente più pronunciato dopo i pasti. In effetti, nel periodo postprandiale, uno strato di succo gastrico acido, non tamponato, è situato superiormente nel chimo, in prossimità del cardias, pronto a refluire.³² Tale condizione è nota come “tasca acida” ed è facilitata dall'assenza di contrazioni peristaltiche nello stomaco prossimale.³³ Ad ogni modo, il meccanismo con cui si genera questa tasca in prossimità del cardias non è attualmente noto. Nei pazienti con GERD, la tasca acida è localizzata prossimalmente rispetto alla giunzione squamo-colonnare e può anche estendersi sopra il LES definito manometricamente.³⁴ In particolare, la tasca acida è maggiormente evidente in pazienti con ernia iatale.³³

Caratteristiche del refluito

Il materiale gastrico che refluisce può contenere varie concentrazioni di acido, pepsina, o contenuto duodenale come acidi biliari ed enzimi pancreatici, tutti elementi capaci di determinare danno mucosale a livello esofageo.³⁵

Numerose evidenze hanno illustrato l'abilità dell'acido di causare sintomi nella GERD. Tuttavia, studi con prolungati monitoraggi pH-metrici hanno rilevato una scarsa correlazione fra gli eventi di reflusso acido e la sensazione di pirosi. È stato infatti dimostrato che, in pazienti con GERD, il 30% dei sintomi può essere associato con episodi di reflusso con un pH compreso fra 4 e 7.³⁶ Emerenziani e collaboratori hanno evidenziato che i pazienti NERD, in particolare, sono sensibili a eventi di reflusso debolmente acido.³⁷

Oltre alla percezione luminale di stimoli chimici, l'esofago è anche capace di percepire stimoli di natura meccanica (ad esempio la distensione delle pareti). Caratteristiche come il volume e l'estensione prossimale del reflusso possono attivare meccanocettori in grado di influenzare la percezione sintomatologica.^{35,38} Indagando comparativamente caratteristiche e percezione del

reflusso acido nei pazienti con e senza esofagite, è stato riscontrato che i pazienti NERD sono caratterizzati da un'elevata percentuale di reflussi prossimali e che tali reflussi hanno la massima probabilità di elicitare i sintomi tipici di malattia.³⁹ Inoltre, due studi multicentrici eseguiti in pazienti con sintomi persistenti nonostante terapia acido-soppressiva, hanno confermato che il fattore maggiormente responsabile dei sintomi è costituito dall'estensione prossimale del refluito gastrico, indipendentemente dalla composizione acida.^{40,41} Infine, nei pazienti NERD, la presenza di gas nel refluito (reflusso misto, sia liquido che gassoso) incrementa significativamente la probabilità di percezione sintomatologica.³⁷

Alterazioni della barriera mucosale

La barriera mucosa agisce come un complesso integrato di componenti anatomo-fisiologici mirati a mantenere la sua integrità bilanciando gli effetti di agenti dannosi, come gli ioni H^+ , la pepsina, i sali biliari e gli enzimi pancreatici. Negli ultimi anni, l'attenzione si è focalizzata sulla presenza di alterazioni morfologiche della mucosa esofagea quali le dilatazioni degli spazi intercellulari (DIS), considerate come le più importanti lesioni microscopiche implicate nello sviluppo di sintomi da reflusso. Tali alterazioni istologiche determinano un aumento della permeabilità della mucosa esofagea, permettendo all'acido (compreso il reflusso debolmente acido) di raggiungere e attivare i chemocettori sulle terminazioni dei neuroni sensoriali.⁴² E' stato anche dimostrato come la presenza di DIS sia direttamente correlata con lo sviluppo dei sintomi e che, dopo terapia, la guarigione ultrastrutturale si accompagni alla risoluzione dei sintomi.⁴³ Comunque, è necessario sottolineare che tali alterazioni microscopiche possono essere trovate anche in pazienti asintomatici e in pazienti con patologie dell'esofago differenti dalla GERD.⁴⁴

Ipersensibilità esofagea

Sebbene la severità e la frequenza del reflusso giochino un ruolo importante nella fisiopatologia della GERD, spesso esiste una discrepanza fra la severità dell'esposizione esofagea al contenuto gastrico e la severità dei sintomi. Pazienti con esposizione dell'esofago all'acido relativamente bassa possono avere sintomi severi, e pazienti con un'elevata esposizione al reflusso possono avere relativamente pochi sintomi.⁴⁵ Quindi, oltre ai fattori meccanici che conducono a un reflusso più severo, i fattori che alterano la sensibilità dell'esofago sono ugualmente importanti nella genesi dei sintomi da reflusso. Infatti, in un sottogruppo di pazienti GERD, i sintomi da reflusso vengono segnalati quando l'esposizione dell'esofago all'acido è nel range di normalità; perciò questi individui sono definiti ipersensibili all'acido.⁴⁶ L'ipersensibilità all'acido si verifica sia in persone con ERD che in persone con mucosa macroscopicamente normale. Esperimenti in cui l'acido viene infuso nell'esofago indicano che la soglia per sviluppare pirosi retrosternale e dolore è più bassa in pazienti con ERD o NERD rispetto a controlli sani.⁴⁷ Brevemente, i fattori che contribuiscono all'incremento della sensibilità esofagea, e quindi all'induzione dei sintomi, rappresentano una complessa interazione fra stimoli periferici (sia chimici che meccanici), un'alterata funzione della barriera mucosale, l'up-regolazione dei nocicettori periferici e la sensibilizzazione centrale (stato psicologico e stress del paziente).^{48,49} Complessivamente, una spiegazione proposta per la discrepanza fra il gradiente crescente di danno mucosale ed esposizione acida con l'intensità dei sintomi riportati nei differenti sottotipi di GERD è la presenza di una significativa variazione nella sensibilità esofagea ai differenti stimoli luminari presente in questi pazienti.

**STUDIO FISIOPATOLOGICO DELLA GERD:
NUOVE METODICHE DIAGNOSTICHE
E LORO APPLICAZIONI CLINICHE**

PH-IMPEDENZIOMETRIA ESOFAGEA MULTICANALE

L'introduzione nella pratica clinica della impedenziometria ha rappresentato un progresso tecnologico molto importante e, in particolare, nell'ultimo decennio sono stati condotti i principali studi clinici nell'ambito della GERD.⁵⁰ Il vantaggio più eclatante dello studio combinato di pH e impedenziometria intraluminale multicanale delle 24 ore (MII-pH) è che per la prima volta permette la valutazione fisica e non solo chimica del refluito in esofago.⁵¹

Dal punto di vista fisico l'impedenza, espressa in ohm (Ω), è la misura inversa della conduttività, identificando, quindi, la resistenza al passaggio di una corrente elettrica nel mezzo. Quando un paio di elettrodi, separati da un isolatore e collegati a un generatore di corrente, sono posizionati nell'esofago, il circuito elettrico è chiuso dalle cariche elettriche presenti nella mucosa dell'esofago e nel lume che circonda il catetere. Il passaggio di un bolo liquido nel segmento sotto esame impedenziometrico è riconosciuto come una rapida caduta d'impedenza, in quanto l'aumento del contenuto ionico del bolo migliora la conduttività elettrica fra i due elettrodi, per ritornare successivamente ai valori basali. Grazie alla presenza lungo il catetere di più segmenti misuranti l'impedenza, è possibile determinare la direzione del bolo e distinguere atti deglutitori, in cui si ha una riduzione in senso aborale dei valori impedenziometrici, da eventi di reflusso, in cui un'analoga variazione avviene in senso prossimale.⁵¹

Per definizione, il reflusso (liquido) rappresenta la caduta, con andamento retrogrado, del 50% del valore d'impedenza in almeno 2 canali consecutivi a partire da quello più distale (più vicino al LES). Questa metodica è in grado anche di distinguere la consistenza fisica del reflusso in liquida, gassosa, mista. Infatti, la comparsa di gas è riconosciuta come un rapido innalzamento dell'impedenza perché, ovviamente, non ci sono cariche elettriche a chiudere il circuito quando i due elettrodi sono sospesi in aria. È stato quindi definito il reflusso gassoso come un rapido incremento dei valori d'impedenza in grado di coinvolgere simultaneamente più di 2 canali consecutivi di registrazione in assenza di deglutizione. Il reflusso misto è identificato come un

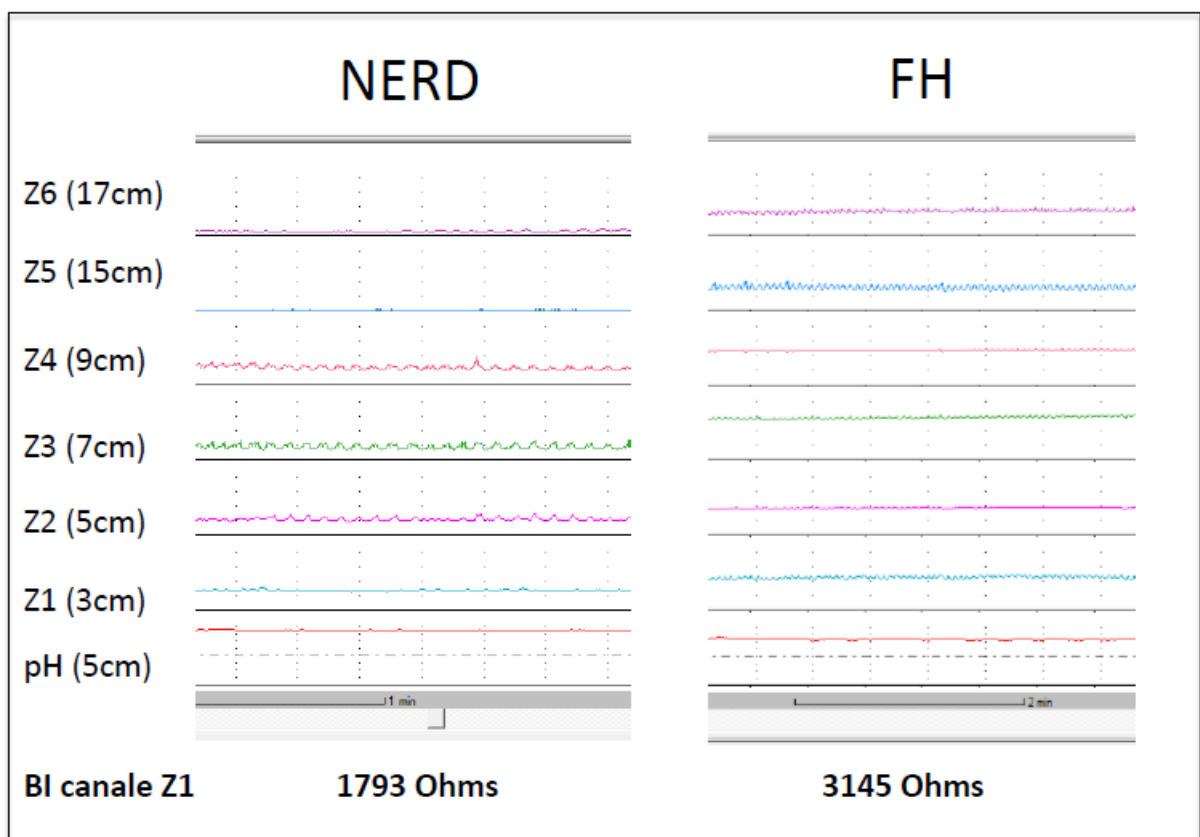
reflusso gassoso presente immediatamente prima o durante un reflusso liquido. È possibile valutare anche l'estensione del reflusso fino all'esofago prossimale, ovvero quando il movimento del contenuto raggiunge le due coppie di elettrodi più vicine allo sfintere esofageo superiore.^{51,52}

In accordo con la classificazione di Porto i reflussi sono divisi dal punto di vista chimico in: reflusso acido, quando provoca una caduta del pH inferiore a 4.0; debolmente acido, quando il valore di pH è compreso fra 4.0 e 7.0; debolmente alcalino, con un valore di pH superiore a 7.0.⁵³ Inoltre si possono ricavare anche dati riguardo il tempo di esposizione al bolo e sua clearance, e il tempo di esposizione dell'esofago distale all'acido e sua clearance. È possibile infine valutare i pazienti anche "on-therapy", come anche studiare i periodi post-prandiali con maggior accuratezza.⁵² Come avviene in uno studio pH-metrico, per ciascun paziente si può valutare la correlazione fra sintomi ed eventi di reflusso calcolata con due parametri di correlazione: il Symptom Index (SI) e il Symptom Association Probability (SAP). In dettaglio, i sintomi registrati sono correlati a episodi di reflusso se presenti all'interno di una finestra temporale di 5 o 2 minuti, rispettivamente per il SI e SAP. Il SI corrisponde al numero di sintomi associati a reflusso diviso il numero di sintomi totali (positivo se > 50%); il SAP è calcolato mediante il completamento di una tabella 2x2 che correla la presenza di eventi reflusso (R+/R) alla presenza dei sintomi (S+/S-). Alla tabella viene applicata la formula del Chi-quadro considerando l'associazione sintomo/reflusso per un valore di $p < 0.05$ (SAP positivo se > 95%).⁵²

Recentemente, crescenti evidenze hanno validato l'utilizzo di due ulteriori nuovi parametri valutabili con la MII-pH: i valori basali di impedenza (BI) che riflettono l'integrità della mucosa esofagea, e l'indice di efficacia di clearance chimica (post-reflux swallow-induced peristaltic wave, PSPW index).⁵⁴⁻⁵⁶ Il calcolo dei valori basali d'impedenza si basa sul principio che in condizioni di riposo le pareti esofagee sono collabite ed il lume è virtuale. Pertanto, i valori di impedenza che vengono misurati in assenza di atti deglutitori o eventi di reflusso dipendono

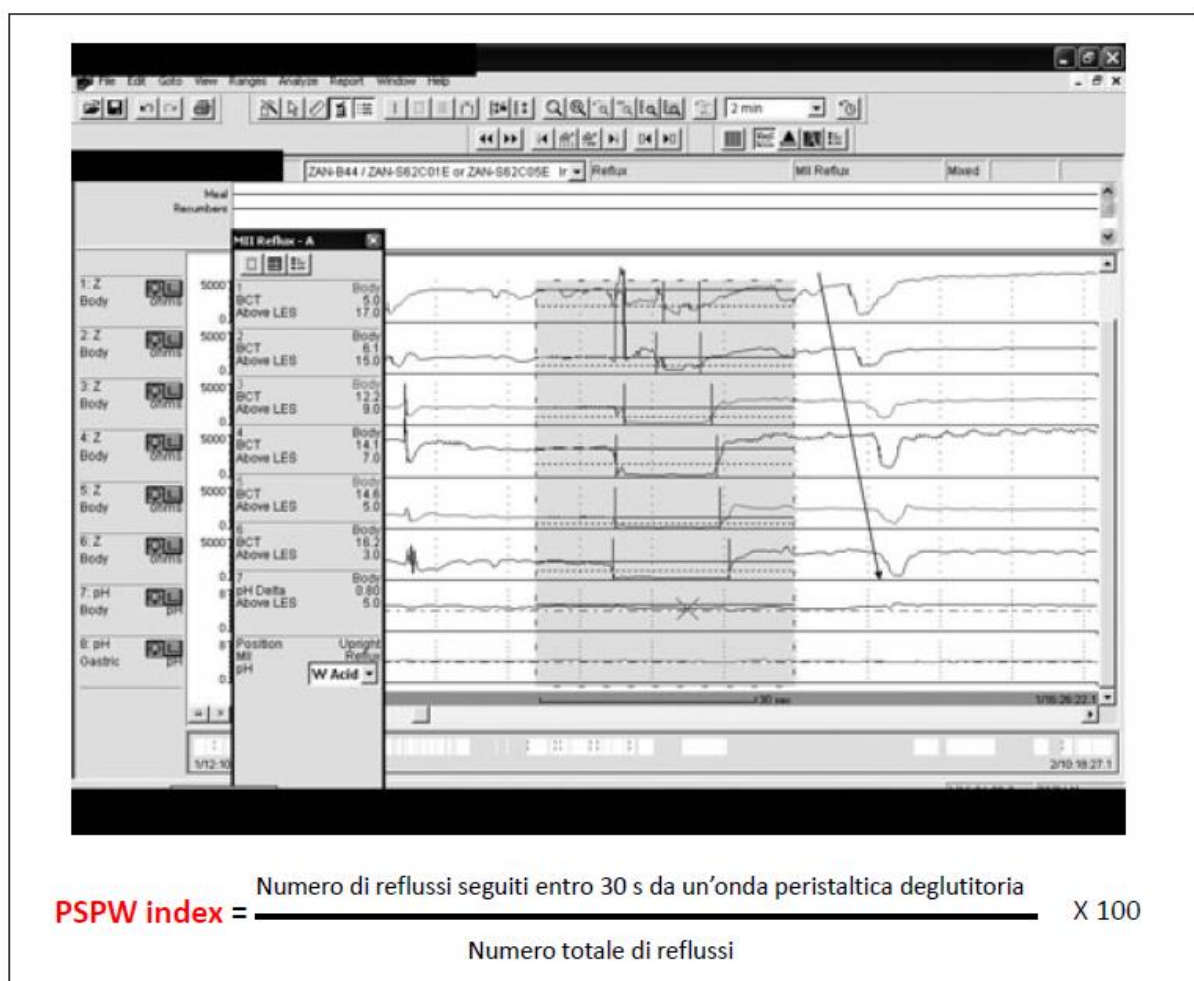
dalla conduttanza della parete esofagea.⁵⁷ A questo riguardo, è stato osservato che i pazienti con esofago di Barrett, ma anche con GERD da lungo tempo e gravi esofagiti hanno un livello basale d'impedenza più basso, in particolare in corrispondenza delle coppie di elettrodi distali.⁵⁸ Kessing e collaboratori⁵⁴ hanno poi dimostrato che i BI correlano con il tempo di esposizione dell'esofago all'acido (AET) e che i pazienti con GERD hanno valori di BI più bassi rispetto ai volontari sani anche se l'AET rimane nei range fisiologici. Inoltre, il nostro gruppo ha evidenziato come la misurazione dei valori di BI permetta di identificare pazienti con GERD che non sono riconosciuti tali dai soli parametri standard della MII-pH per le attuali limitazioni degli indici di associazione fra sintomi e reflussi e la variabilità giornaliera (Figura 5).⁵⁹

Figura 5: Rappresentazione del valore di impedenza basale (BI) calcolato a livello del canale impedenziometrico più vicino allo sfintere esofageo inferiore (Z1) in pazienti con malattia da reflusso non-erosiva (NERD) e piroisi funzionale (FH)



Una caratteristica interessante di questi valori è anche la loro stabilità durante tutte le ore di registrazione di MII-pH, dimostrando una quasi perfetta concordanza fra tempi di analisi brevi e prolungati.^{54,55} In generale, è possibile affermare che la misurazione dei BI permette di incrementare la sensibilità diagnostica della MII-pH.^{60,61}

Figura 6: Esempio di evento di reflusso seguito entro 30 s da un'onda peristaltica deglutitoria (freccia) in una finestra di analisi di un tracciato di pH-impedenziometria durante il calcolo dell'indice di efficacia di clearance chimica (modificato da Frazzoni et al.⁵⁶)



Frazzoni e collaboratori⁵⁶ hanno dimostrato che con l'utilizzo della MII-pH è possibile stimare la presenza di onde peristaltiche indotte dalle deglutizioni, le quali, trasportando saliva, rimuovono dall'esofago la più alta percentuale di materiale refluito e, su questa base, è stato

calcolato il PSPW index (Figura 6). Inoltre, hanno dimostrato che le alterazioni della clearance chimica, espresse dal PSPW index, rappresentano un meccanismo fisiopatologico primario specifico della GERD, che infatti rimane inalterato dalla terapia medica o chirurgica, e mostra un'alta accuratezza diagnostica nel distinguere i pazienti GERD dai non-GERD.⁵⁶ In conclusione, in linea con un modello di spettro della GERD in cui le alterazioni fisiopatologiche incrementano in parallelo con la severità della malattia, si registra una progressiva riduzione dei BI e del PSPW index dai volontari sani e pazienti con FH a pazienti con esofago ipersensibile, poi NERD ed ERD.⁵⁴⁻⁵⁶

APPLICAZIONI CLINICHE DELLA MII-PH IN PAZIENTI CON GERD

Le principali applicazioni cliniche della metodica di MII-pH riguardano la possibilità di classificare accuratamente i pazienti con GERD dal punto di vista fisiopatologico e di valutare i meccanismi di refrattarietà alla terapia acido-soppressiva.

Classificazione della GERD

La GERD può essere suddivisa in varie categorie sulla base della severità del danno della mucosa esofagea, della severità dell'esposizione acida e della relazione fra eventi di reflusso e sintomi.

La gastroduodenoscopia può distinguere pazienti con ERD e/o complicanze (ad esempio esofago di Barrett, stenosi peptica) da pazienti senza danni macroscopici della mucosa (NERD). In particolare, l'esofagite da reflusso è classificata endoscopicamente in accordo con la classificazione di Los Angeles, variando da un lieve danno mucosale, grado A, ad ulcerazioni circonfenziali severe, grado D.¹ Nella popolazione di pazienti con GERD, quelli con ERD sono circa il 30% e quelli con complicanze il 5%. I pazienti NERD rappresentano il più comune fenotipo di presentazione della GERD (circa il 65%) includendo sottopopolazioni di pazienti marcatamente eterogenei da un punto di vista sia fisiopatologico che clinico, e per cui è

raccomandata una corretta classificazione con la MII-pH che, in particolare, permette il riconoscimento di reflussi sia acidi che debolmente acidi e la loro correlazione con i sintomi (Figura 7).⁶²

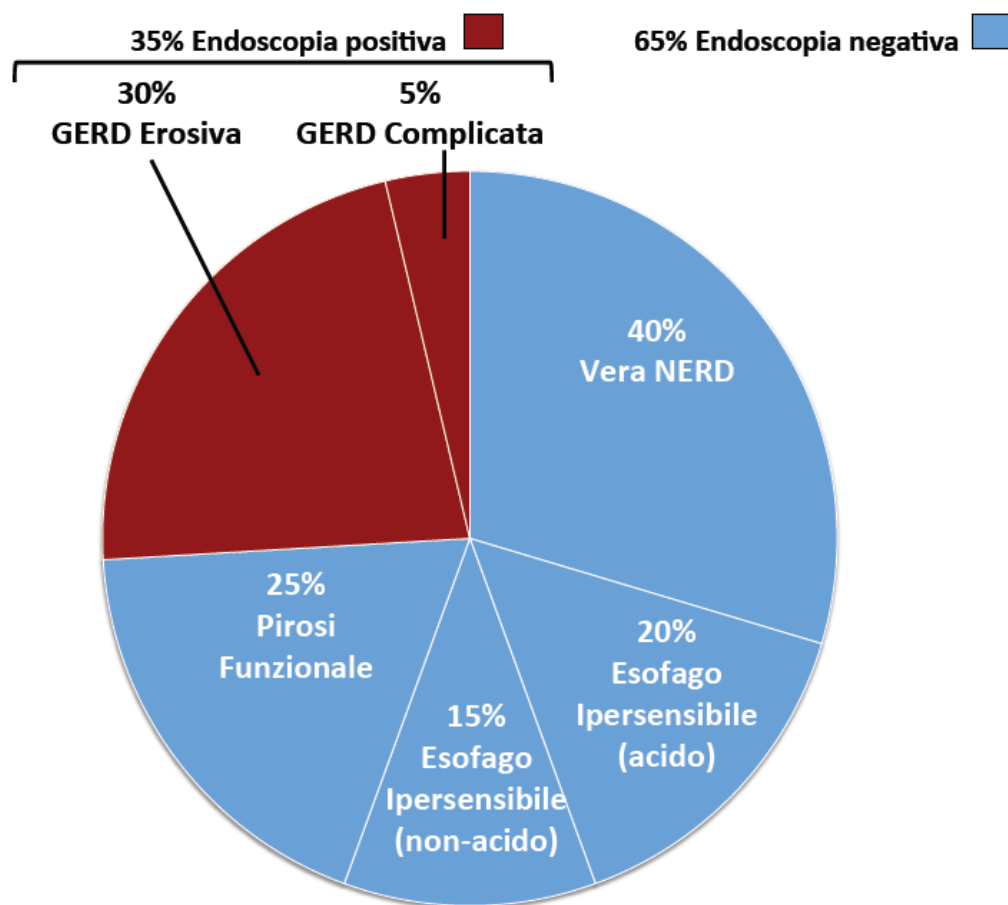
Fass e i suoi collaboratori³⁶ sono stati i primi a dimostrare che solo il 45% dei pazienti NERD hanno un'aumentato AET, mentre il restante 55% non ha un eccesso di acido in esofago. In quest'ultimo gruppo, gli autori identificarono un sottogruppo di pazienti con esofago ipersensibile all'acido (associazione positiva fra sintomi e reflussi acidi) e un ulteriore sottogruppo con una ipotetica associazione fra la presenza di pirosi e un tipo di reflusso non acido.³⁶

La classificazione di Roma III dei disturbi funzionali dell'esofago ha identificato la condizione di FH, secondo parametri pH-metrici, ovvero normale AET e associazione negativa fra sintomi e reflussi acidi, e clinici, ovvero risposta insoddisfacente alla terapia con PPIs.⁴ Tuttavia, precedenti studi hanno sottolineato l'importante limitazione nell'accuratezza diagnostica del PPI test ad identificare pazienti affetti da GERD (ad esempio per un possibile effetto placebo).⁶³⁻⁶⁵ Inoltre, esistono numerose ragioni per la refrattarietà ai PPIs, fra cui il reflusso non-acido.⁶⁶ A tale proposito, l'avvento della MII-pH ha permesso, per la prima volta, di differenziare il reflusso acido da quello non-acido, diventando rapidamente il gold standard per caratterizzare tutti i tipi di reflusso e investigare la loro associazione con la sintomatologia riferita dal paziente.⁵²

Savarino e colleghi⁶⁷ hanno caratterizzato 150 pazienti con NERD (dopo wash-out da terapie acido-soppressive) utilizzando come metodica fisiopatologica la MII-pH e hanno evidenziato che solo il 42% dei pazienti aveva un AET patologico. Fra i restanti pazienti con normale AET (58%), il 32% aveva un'associazione positiva fra sintomi e reflussi e, in particolare, fra questi il 15% aveva sintomi correlati all'acido, il 12% al non-acido e il 5% sia all'acido che al non-acido. Il restante 26% dei pazienti con normale AET aveva un'associazione negativa fra sintomi e reflussi.⁶⁷ Il gruppo di pazienti con esofago ipersensibile al reflusso non-acido rappresenta

una nuova scoperta ottenuta solo grazie a questa metodica che ha, di conseguenza, anche il merito di restringere il gruppo di pazienti affetti da FH. In dettaglio, Savarino e collaboratori⁶⁸ hanno mostrato un incremento del numero di pazienti diagnosticato con esofago ipersensibile del 10% e una riduzione nel numero di pazienti diagnosticati con FH dello stesso fattore.

Figura 7: Caratterizzazione dei pazienti con malattia da reflusso (GERD) su base endoscopica e pH-impedenziometrica (modificato da Savarino et al.⁶²)



Valutazione dei meccanismi di refrattarietà a terapia acido-soppressiva

La terapia con PPIs rappresenta il cardine del trattamento della GERD e nell'iter diagnostico di un paziente con sintomi da reflusso che non presenta segni/sintomi d'allarme (ad esempio anemia, disfagia, vomito, dolore toracico, involontaria perdita di peso) un trial con PPIs rappresenta il primo *step* di valutazione.⁶⁹ Tuttavia, è noto che una quota variabile di pazienti

(10-40%) non ottiene una risposta adeguata alla sintomatologia.⁷⁰ Attualmente, la mancata risposta alla terapia è definita come una riduzione < 50% del sintomo principale dopo assunzione di PPIs per 12 settimane.⁷¹ In questi pazienti diviene fondamentale stabilire la causa della mancata risposta e l'esame di scelta è la MII-pH.

I meccanismi implicati nella refrattarietà ai PPIs sono vari e, in generale, in assenza di cause strutturali, motorie o infiammatorie, è necessario indagare la presenza di disturbi funzionali. La classificazione dei pazienti con sintomi da reflusso effettuata con la MII-pH permette, dal punto di vista pratico, di ottenere delle indicazioni sulla risposta terapeutica di questi pazienti in quanto quelli con “vera NERD” rispondono al trattamento antisecretivo molto bene e in maniera sovrapponibile a quelli con ERD. Quelli con “esofago ipersensibile all'acido” possono ancora giovare di una terapia antisecretiva con PPI, presumibilmente a dosaggi più elevati di quelli standard. Mentre, i pazienti con “esofago ipersensibile al non-acido” e quelli con FH non rispondono ai PPI.⁶⁷ Fra le cause di mancata risposta correlate al reflusso, due studi multicentrici hanno evidenziato in una piccola quota di pazienti (circa 11%) la persistenza di un reflusso acido sintomatico sotto terapia, e nel 17% circa un reflusso di materiale non-acido associato ai sintomi.^{72,73} In tali casi le opzioni terapeutiche comprendono la chirurgia antireflusso o l'utilizzo di farmaci antidepressivi capaci di modulare la sensibilità esofagea.⁶² Bravi e collaboratori⁷⁴ hanno evidenziato come alcuni pazienti con GERD che non rispondono alla terapia deglutiscano più aria durante il pasto e presentino più reflussi di tipo misto nella fase postprandiale. Infine, la MII-pH è in grado di valutare ulteriori meccanismi alla base della genesi dei sintomi da reflusso non responsivi a terapia come ad esempio la presenza di eruttazione sia classica, ovvero di origine gastrica, che “sopra-gastrica”, in cui il gas viene deglutito e poi rapidamente riespulso dal lume esofageo.^{75,76} Quest'ultimo caso rientra in un disturbo comportamentale suscettibile di terapia rieducativa logopedica.⁷⁷

In conclusione, l'utilizzo della MII-pH consente una migliore caratterizzazione fisiopatologica del reflusso e quindi anche una migliore gestione terapeutica.

MANOMETRIA ESOFAGEA AD ALTA RISOLUZIONE

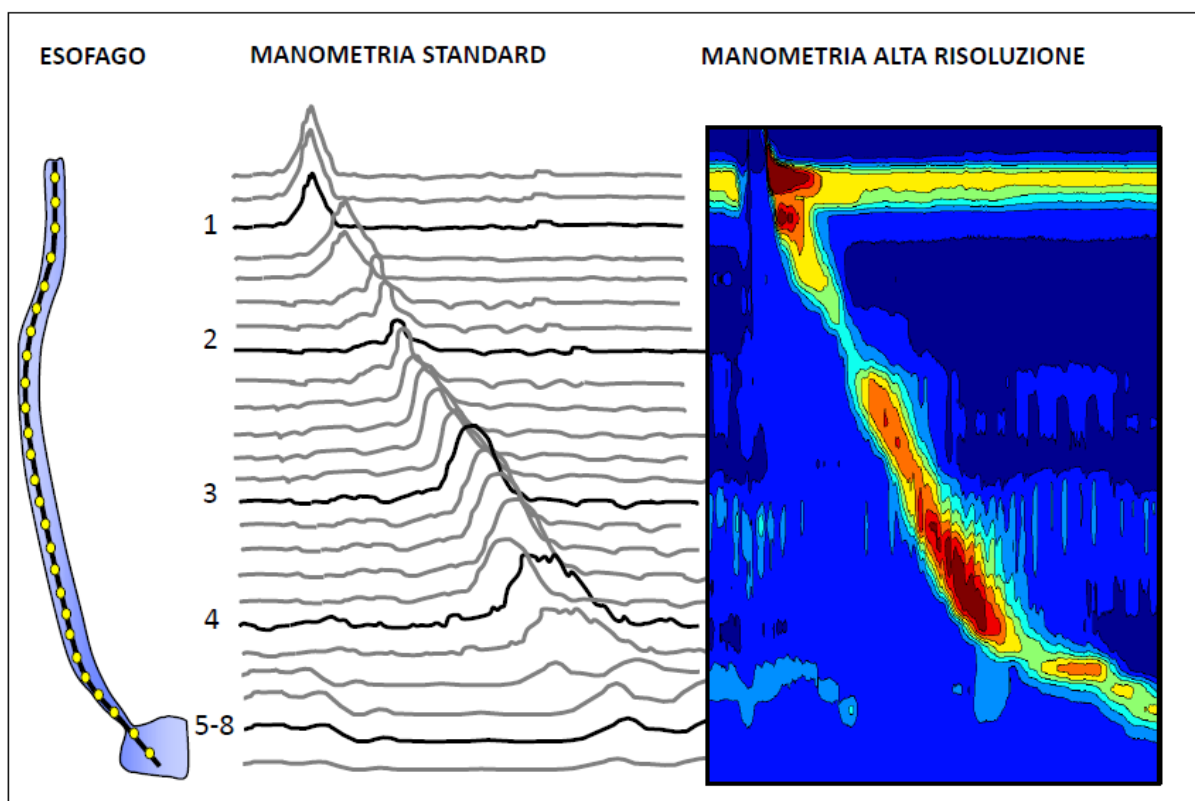
La manometria esofagea è la metodica fondamentale con cui viene studiata la motilità dell'esofago grazie alla misurazione delle variazioni della pressione endoluminale indotte dalle contrazioni delle pareti. I sistemi manometrici tradizionali prevedono l'utilizzo di un catetere con 4-8 canali perfusi con acqua bi-distillata la cui estremità viene collegata a un trasduttore di pressione esterno.⁷⁸

Una recente evoluzione della tecnica manometrica è rappresentata dalla cosiddetta "alta risoluzione". La manometria ad alta risoluzione (HRM) è una tecnica che utilizza un numero nettamente più elevato di sensori di pressione, fino a 36 microtrasduttori allo stato solido, densamente ravvicinati fra loro in modo da ottenere una rappresentazione grafica senza soluzione di continuità delle variazioni della pressione a partire dallo sfintere esofageo superiore fino a quello inferiore, fornendo uno studio topografico delle pressioni esofagee (Figura 8).^{79,80}

Per capire ed analizzare i miglioramenti diagnostici che si ottengono con uno studio HRM della motilità esofagea ricordiamo brevemente che la sequenza deglutitiva è costituita da un atto volontario seguito da un'attività muscolare involontaria. La fase orale, volontaria, spinge il bolo in ipofaringe e determina l'apertura dello sfintere esofageo superiore. Quando il bolo giunge nell'esofago cervicale si innesca un'attività peristaltica automatica che ne facilita la progressione in senso aborale. La peristalsi esofagea è determinata dal plesso nervoso enterico i cui neuroni inviano segnali eccitatori ed inibitori rispettivamente alla muscolatura a monte e a valle del bolo. Meccanismi centrali e periferici sono responsabili dell'onda di inibizione che decorre la lunghezza dell'esofago (inibizione deglutitoria); l'attivazione centrale di fibre vagali determina l'inibizione dell'intero esofago, mentre distalmente neuroni mienterici inibitori rilasciano ossido nitrico, inibendo la contrazione della muscolatura liscia. In seguito all'onda inibitoria, l'eccitazione deglutitoria mediata da vie colinergiche determina la contrazione. Il LES si rilascia immediatamente all'inizio dell'atto deglutitorio per un riflesso neuromediato e

resta aperto finché non viene raggiunto dalla contrazione esofagea per poi successivamente riacquistare il suo tono basale.⁸¹

Figura 8: Rappresentazione grafica dei 36 microtrasduttori posizionati in esofago durante l'esame di manometria esofagea ad alta risoluzione che forniscono una scala colorimetrica senza soluzione di continuità delle variazioni della pressione endoluminale



L'analisi topografica delle pressioni endoluminali attuata con la metodica HRM prevede l'utilizzo di vari parametri di cui riportiamo i principali. Nella valutazione della EGJ il parametro più utilizzato è la pressione integrata di rilasciamento (integrated relaxation pressure, IRP) che valuta la pressione media più bassa raggiunta in 4 s, consecutivi o no, durante il rilasciamento del LES.⁸² Per valutare l'integrità della peristalsi vengono utilizzati due parametri. Il primo mira ad escludere la presenza di interruzioni lungo le linee isobariche a 20 mmHg e considera accettabili interruzioni fino a 5 cm. La presenza di "peristaltic breaks" superiori a questa soglia costituisce un marker di peristalsi inefficace. L'altro parametro misura

la forza delle contrazioni nell'esofago distale e viene espresso come integrale (distal contractile integral, DCI) della lunghezza, ampiezza e durata delle contrazioni nell'esofago distale. Valori compresi fra 450 e 8000 mmHg-s-cm sono considerati come range di normalità. Infine, si può stabilire il tempo intercorso tra l'inizio della deglutizione ed il termine della sequenza peristaltica (distal latency, DL) che deve essere maggiore di 4.5 s. In tal modo si possono identificare contrazioni premature che sono condizioni patologiche dovute a malfunzionamento dei meccanismi inibitori dei plessi intramurali.^{82,83}

A completamento diagnostico, durante l'esecuzione di una HRM, sono sempre più frequentemente utilizzati test provocativi mirati a rivelare la presenza di fini caratteristiche motorie dell'esofago, tra cui, ad esempio, l'utilizzo di materiale più viscoso come la polpa di mela, deglutizioni di boli solidi, libera assunzione di maggiori volumi di acqua, e test con pasti.^{84,85} Fra questi, il più semplice è il test provocativo a basso volume con deglutizioni rapide multiple (MRS), in cui cinque deglutizioni sono somministrate in rapida sequenza. Tale test è utilizzato come manovra provocativa per valutare sia la fase inibitoria che eccitatoria della contrazione esofagea post-deglutitoria, rappresentando una misura della riserva funzionale contrattile della muscolatura liscia esofagea.⁸⁶

Dal punto di vista clinico, è necessario sottolineare che recentemente è stata proposta una nuova classificazione dei disordini motori dell'esofago, la Chicago Classification, che incorpora i nuovi dettagli e la maggiore accuratezza diagnostica della HRM rispetto alla manometria convenzionale.⁸⁷ Questa nuova classificazione utilizza i diversi parametri topografici della pressione esofagea e, mediante la ricostruzione colorimetrica del tracciato (rosso alta pressione, blu bassa pressione; Figura 8), è in grado di caratterizzare accuratamente ogni singola deglutizione.^{88,89} Attualmente è disponibile la revisione più aggiornata di tale classificazione, la versione 3.⁹⁰ Infine, studi con videofluoroscopia o impedenziometria hanno mostrato che la HRM, utilizzando la presentazione topografica dei dati pressori, migliora la capacità di predire l'efficacia del trasporto di bolo in esofago rispetto alla manometria convenzionale.⁹¹ In

particolare, un recente lavoro di Roman et al.⁹² ha evidenziato che le interruzioni > 5 cm sono uniformemente associate con alterazioni del transito del bolo.

APPLICAZIONI CLINICHE DELLO STUDIO HRM IN PAZIENTI CON GERD

Per quanto riguarda l'impiego della manometria esofagea in pazienti con GERD, va precisato che in questo caso l'indagine non ha un ruolo prettamente diagnostico ma piuttosto è necessaria per un corretto posizionamento dei cateteri pH-metrici, in quanto consente l'esatta localizzazione del LES, e utile sia per valutare la motilità esofagea nei pazienti candidati ad intervento chirurgico antireflusso (o con disfagia post-funduplicatio), sia per valutare casi di sintomatologia da reflusso secondari a patologie sistemiche, di cui in particolare le collagenopatie, o a patologie motorie dell'esofago.⁹³

I dati fisiopatologici ottenuti con studi HRM in pazienti GERD hanno concentrato l'attenzione sulle alterazioni della barriera antireflusso (TLESRs, EGJ incompetente) e della clearance esofagea come aspetti rilevanti nella patogenesi della malattia.⁹⁴ Come ben noto, la maggior parte degli eventi di reflusso avviene durante i TLESRs che, quindi, giocano un ruolo centrale nella GERD. A questo proposito, recenti studi hanno evidenziato che la HRM è riproducibile e più sensibile della manometria stazionaria nel rilevare i TLESRs, documentando inoltre un miglior *interobserver agreement*.^{95,96} Per quanto riguarda la valutazione della EGJ, lo studio HRM, fornendo una rappresentazione dinamica della zona ad alta pressione dell'EGJ, ha reso possibile isolare la contrazione estrinseca del CD rispetto alla pressione espiratoria del LES.¹⁴ Su questa base, Pandolfino et al.¹⁴ hanno evidenziato che un ridotto aumento inspiratorio della pressione dell'EGJ, considerato come indicatore di alterata funzione della componente crurale, possa essere predittivo di GERD in modo più attendibile rispetto sia alla pressione del LES che alla separazione fra LES e componente crurale.¹⁴ Inoltre, durante lo studio HRM, può essere misurata in modo simultaneo la separazione tra il LES intrinseco e il CD per documentare la presenza di una eventuale ernia iatale.²⁹ In uno studio prolungato di HRM e MII-pH,

Bredenoord et al.⁹⁷ hanno osservato che in pazienti con una piccola ernia iatale si verifica frequentemente la riduzione intermittente dell'ernia. Al contrario, in caso di separazione non riducibile fra il CD ed il LES, gli eventi di reflusso hanno un incremento circa doppio per meccanismi differenti dai TLESRs.⁹⁷

I pazienti con peristalsi debole o fallita (rispettivamente DCI medio < 450 o 100 mmHg-s-cm) presenteranno una alterata capacità di clearance dell'esofago dopo eventi di reflusso. Il grado di alterazione è verosimilmente funzione del numero di onde peristaltiche inefficaci e/o associate con interruzioni del fronte d'onda contrattile. Infatti, un difetto motorio dell'esofago che risulta associato alla GERD è la motilità esofagea inefficace (IEM). In accordo con la versione più recente della classificazione di Chicago, la definizione di IEM prevede la presenza di 50% o più di deglutizioni inefficaci, ovvero fallite o deboli.⁹⁰ In questo contesto, un recente studio con HRM ha dimostrato la presenza di disfunzione della peristalsi esofagea (peristalsi fallita, debole, spastica) nel 56% delle deglutizioni liquide nei pazienti NERD e nel 76% in quelli ERD, evidenziando una differenza significativa rispetto ai controlli sani ma non tra i due gruppi di pazienti.⁹⁸ In seguito alla deglutizione di bolo solido la proporzione di contrazioni peristaltiche efficaci è aumentata nei pazienti NERD e nei controlli sani ma non nei pazienti ERD. Infine, gli autori hanno osservato che utilizzando la HRM la frequenza di anomalie della motilità esofagea nei soggetti GERD era superiore rispetto a quella riportata in studi precedenti eseguiti con manometria convenzionale a perfusione.⁹⁸

STUDIO CLINICO

INTRODUZIONE E OBIETTIVI DELLO STUDIO

Alterazioni non specifiche della motilità esofagea, con conseguente riduzione dell'efficacia della clearance, sono frequentemente presenti in pazienti con GERD; tuttavia, le basi fisiopatologiche di tali disfunzioni non sono ancora ben definite.⁹³ Gli studi manometrici basati solo sull'esecuzione di deglutizioni liquide presentano limitazioni intrinseche, in quanto contrazioni attive dell'esofago potrebbero non essere necessarie per permettere il passaggio dei liquidi attraverso l'esofago soprattutto in posizione eretta.⁹⁹ Inoltre, quadri motori anormali sono spesso intermittenti, non-specifici e non consentono una diretta spiegazione della sintomatologia. Considerando tale presupposto, l'esecuzione di test provocativi durante la HRM facilita la descrizione e interpretazione della motilità esofagea nel suo complesso.^{84,85} Fra questi, a completamento diagnostico, è possibile effettuare il test provocativo a basso volume con MRS. Tale test è utilizzato per valutare sia la fase inibitoria che eccitatoria della contrazione esofagea post-deglutitoria. Infatti, quando vengono attuate rapidamente deglutizioni multiple, la peristalsi del corpo esofageo è profondamente inibita e il rilasciamento dello sfintere esofageo inferiore risulta pronunciato. Dopo l'ultima deglutizione della serie, è attesa come risposta una robusta contrazione peristaltica del corpo esofageo e la ripresa del tono basale del LES. È necessaria la presenza di integrità anatomico-funzionale sia delle connessioni neurali che della muscolatura esofagea affinché si ottenga una risposta corretta al test con MRS.⁸⁶ Risposte anormali sono raggruppabili in due generali categorie: (i) incompleta inibizione del corpo esofageo, in cui sono visualizzabili frammenti di contrazione, e (ii) contrazione subottimale, in cui viene meno l'incremento della contrazione nella sequenza che segue l'ultima deglutizione della serie.^{100,101} Shaker e collaboratori¹⁰² hanno rilevato che il DCI della contrazione esofagea nella sequenza dopo MRS aumenta di circa due volte nei controlli sani.

Recentemente, uno studio osservazionale prospettico ha dimostrato che una contrazione esofagea anormale in risposta a MRS può aiutare a predire l'insorgenza di disfagia dopo

intervento di chirurgia antireflusso.¹⁰⁰ Infatti, tale alterazione è considerata rappresentare una riserva inadeguata della funzione contrattile della muscolatura liscia esofagea.¹⁰⁰

In questo contesto, lo scopo del presente studio è stato quello di valutare, mediante HRM, la risposta motoria dell'esofago a un test provocativo a basso volume in pazienti con NERD e AET patologico rispetto a pazienti con FH, considerati come controlli. Inoltre, è stata analizzata la correlazione fra la risposta contrattile dopo MRS e rilevanti parametri clinici, valutati con studio di MII-pH, tra cui l'AET, i valori di BI e il PSPW index.

MATERIALI E METODI

Da settembre 2014 a marzo 2015 sono stati arruolati prospetticamente 56 pazienti consecutivi con pirosi retrosternale ed endoscopia negativa. In dettaglio, i criteri di inclusione erano i seguenti: età maggiore di 18 anni; presenza di pirosi retrosternale, con/senza rigurgito, almeno 2 volte a settimana per 6 mesi, anche non consecutivi, nell'arco dell'anno precedente; esecuzione di una esofagogastroduodenoscopia (previa sospensione di terapia acido-soppressiva da almeno 20 giorni) nell'arco dei 6 mesi precedenti, risultata negativa. I criteri di esclusione utilizzati per lo studio, oltre alla presenza di lesioni della mucosa esofagea, sono stati: pregresso intervento chirurgico a livello toracico o del tratto gastrointestinale superiore; storia di neoplasia del tratto gastrointestinale; gravidanza e/o allattamento; diagnosi di disordini maggiori della motilità esofagea; diagnosi di IEM; ernia iatale > di 3 cm visualizzata durante gastroscopia (considerando che tali cambiamenti strutturali a livello della EGJ possano alterare la clearance); diagnosi di esofago ipersensibile (AET fisiologico, normale numero di episodi di reflusso e associazione positiva fra sintomi e reflussi).

Lo studio è stato disegnato e condotto in accordo con la Dichiarazione di Helsinki (sesta revisione, Seoul 2008). Al momento dell'arruolamento, un investigatore ha effettuato un'intervista strutturata, includendo anamnesi patologica prossima e remota, terapia domiciliare in corso, abitudini voluttuarie (fumo, alcol) ed esame obiettivo con registrazione di peso e

altezza del paziente. Tutti i pazienti hanno firmato un consenso informato per la partecipazione allo studio.

Previo un periodo di wash-out da PPIs o H2-antagonisti di almeno 15 giorni, i pazienti hanno effettuato gli esami di fisiopatologia esofagea programmati: HRM e MII-pH. Infatti, i pazienti con adeguata risposta alla terapia acido-soppressiva hanno eseguito gli esami perché potenziali candidati ad intervento di chirurgia antireflusso, mentre i pazienti con parziale o mancata risposta alla terapia sono stati esaminati per studiare le possibili cause di refrattarietà. Durante il periodo di wash-out, è stato concesso l'utilizzo di alginati, assunti al bisogno, come terapia di supporto per il controllo dei sintomi.¹⁰³ La HRM e MII-pH sono state eseguite dopo digiuno da circa 10 ore.

Manometria esofagea ad alta risoluzione

L'esame è stato effettuato con un catetere allo stato solido con 36 sensori circonferenziali distanziati a intervalli di 10 mm dal faringe allo stomaco (*ManoScan 360, Sierra Scientific Instruments, Los Angeles, CA, USA*). Dopo applicazione di analgesia locale delle narici, il catetere è stato introdotto per via trans-nasale fino allo stomaco.

Dopo un periodo di adattamento di qualche minuto, è stata registrata sia la misura basale della pressione che la posizione dell'EGJ e dello sfintere esofageo superiore in 30 s privi di atti deglutitori. Durante la HRM sono state inoltre eseguite dieci deglutizioni di 5 ml di acqua (somministrati con una siringa) (WS) in posizione supina ad intervalli di almeno 20 s, e un MRS (5 deglutizioni consecutive di 3 ml di acqua in un tempo inferiore a 10 s) in posizione seduta. I dati ottenuti sono stati analizzati con un software specifico (*ManoView 2.0, Sierra Scientific Instruments*).

Studio pH-impedenziometrico multicanale

Lo studio di MII-pH è stato condotto con un sondino naso-esofageo in polivinile, del diametro di 2.3 mm, contenente 6 coppie di elettrodi misuranti l'impedenza e un sensore in antimonio misurante il pH, calibrato come stabilito dal protocollo di utilizzo dello strumento con due soluzioni tampone a pH 4.0 e pH 7.0 prima dell'inizio di ciascun esame (*Sundhill Scientific Inc., Highland Ranch, CO, USA*). Il catetere monouso è stato posizionato con il sensore di pH a 5 cm dal LES (la distanza del bordo superiore del LES dalle narici è stata determinata con la valutazione manometrica) e i 6 canali misuranti l'impedenza posti a 3, 5, 7, 9, 15 e 17 cm dal LES. Il catetere è stato quindi fissato esternamente al naso. I segnali d'impedenza e di pH sono stati registrati a circa 50 Hz e acquisiti mediante un registratore portatile (*Zephyr; Sundhill Scientific Inc.*).

Durante la registrazione, è stato chiesto a tutti i pazienti di consumare alimenti e bevande esclusivamente nell'arco di tre pasti (pranzo, cena e colazione il giorno seguente) seguendo una dieta standard, sul modello di quella mediterranea, priva di alcol e caffè per ridurre la variabilità dovuta alle abitudini alimentari.¹⁰⁴ Inoltre, è stato richiesto di assumere la posizione clinostatica solamente durante le abituali ore di riposo notturno (massimo 8 ore). Il registratore portatile è fornito di una serie di tasti necessari per segnalare l'ora di inizio e fine dei pasti, il tempo trascorso in posizione clinostatica e i sintomi che si sono manifestati durante le ore di registrazione.

Analisi dei dati

I risultati dello studio HRM sono stati acquisiti e analizzati per valutare, in un primo momento, l'eventuale presenza di alterazioni motorie dell'esofago e per stimare la distanza del bordo superiore del LES dalle narici. In dettaglio, è stata calcolata la pressione basale (media e inspiratoria) dell'EGJ, in riferimento a quella intra-gastrica, durante una finestra temporale di 30 s utilizzando uno "sleeve virtuale" di 6 cm per ottenere una singola misura unitaria. Nella

stessa finestra, è stata valutata la tipologia di EGJ e suddivisa come segue: normale se presente sovrapposizione completa di CD e LES con un singolo picco pressorio durante inspirazione ed espirazione (tipo 1); separazione fra CD e LES di 1-2 cm con doppio picco pressorio e nadir pressorio fra i picchi maggiore della pressione gastrica (tipo 2); separazione fra CD e LES con doppio picco pressorio e nadir pressorio fra i picchi uguale o inferiore alla pressione gastrica (tipo 3).⁹⁰ Le disfunzioni peristaltiche delle WS sono state classificate in accordo ai criteri di Chicago recentemente pubblicati (considerando in particolare: IRP, DCI, DL, integrità).⁹⁰

La lettura del tracciato di MII-pH è stata eseguita manualmente da due investigatori, in cieco per le condizioni del paziente per assicurare un accurato rilevamento e classificazione degli episodi di reflusso, con l'utilizzo di finestre operative di 5 minuti per tutte le 24 ore. Il tempo del tracciato corrispondente ai pasti è stato escluso dalla lettura. Come valori di riferimento sono stati considerati i valori della popolazione di volontari sani raccolti dal gruppo del Prof. Savarino presso la Gastroenterologia del DIMI di Genova.¹⁰⁴

I dati di MII-pH sono stati utilizzati per determinare il numero e il tipo di episodi di reflusso e l'AET in ciascun paziente. Il numero totale dei reflussi è stato considerato patologico se > 54 , e l'AET, valutato a livello dell'esofago distale, è stato definito patologico con pH inferiore a 4 unità per un valore superiore al 4.2% del tempo totale di registrazione (24 ore). Come precedentemente riportato, i reflussi acidi, debolmente acidi e debolmente alcalini sono stati definiti in accordo alla letteratura.⁵³ Il reflusso prossimale è stato definito come una caduta di impedenza registrata fino a 15 cm dal LES. Infine, la correlazione fra sintomi e eventi di reflusso è stata valutata con il SI e il SAP.¹⁰⁵

I valori di BI sono stati registrati a livello del canale più distale (z3, 3 cm sopra il LES) durante le ore del riposo notturno a tre differenti orari (alle 01.00, 02.00 e 03.00). In dettaglio, sono state selezionate finestre temporali di 10 min in corrispondenza di ciascun orario evitando episodi di reflusso, deglutizioni e cadute di pH. Inoltre, per ciascun paziente è stato calcolato il PSPW index che rappresenta un parametro di efficacia della clearance chimica (numero di

eventi di reflusso seguiti entro 30 s da onde peristaltiche indotte dalla deglutizione diviso il numero totale di eventi di reflusso).⁵⁶

Ai fini dell'analisi statistica, tutti i pazienti arruolati sono stati divisi in due differenti gruppi sulla base dei dati di MII-pH come segue: AET patologico (pazienti NERD); AET fisiologico, normale numero di episodi di reflusso e associazione negativa fra sintomi e reflussi (pazienti FH). Quindi, sono stati calcolati la media del DCI (mmHg*cm*s) delle 10 onde deglutorie e il DCI dell'onda di contrazione nella sequenza che segue l'ultima deglutizione dell'MRS. Infine è stato valutato il rapporto fra il DCI di MRS e WS (MRS/WS) e successivamente i dati di HRM sono stati correlati con l'AET, i valori di BI e PSPW in entrambi i gruppi.

METODO STATISTICO

Tutti i dati sono stati espressi con il valore di media e deviazione standard (ds). Tutti i parametri sono stati analizzati con il test di Student (t-test) e con il test Mann-Whitney per le variabili non parametriche. Inoltre, tutti i dati sono stati normalizzati mediante il test di Kolmogorov-Smirnov. Infine, è stata eseguita l'analisi di correlazione secondo Spearman, con il calcolo del coefficiente "r" per definire la presenza di una correlazione diretta o inversa fra MRS e MRS/WS ratio con AET, BI e PSPW. E' stato quindi definito un valore di significatività statistica in caso di $p < 0.05$.

RISULTATI

I principali risultati dello studio sono riportati di seguito considerando sia le caratteristiche demografiche e cliniche dei pazienti che i dati ottenuti dagli studi di fisiopatologia eseguiti (HRM e MII-pH).

Caratteristiche demografiche e cliniche

Considerando i risultati degli esami di fisiopatologia eseguiti, 8 pazienti sono stati esclusi dallo studio per diagnosi di disturbi maggiori della motilità dell'esofago.

Abbiamo quindi selezionato 48 pazienti: 22 NERD (12 maschi, 10 femmine) e 26 FH (10 maschi, 16 femmine). Le caratteristiche demografiche basali erano simili fra i due gruppi di pazienti (Tabella 1). La presenza di una piccola ernia iatale (< 3 cm) è stata riportata in 14 pazienti con NERD e in 10 FH (p=0.082). Come atteso, la risposta a terapie con PPI, effettuate prima dell'arruolamento nello studio, è risultata differente fra i due gruppi. In particolare, tutti i pazienti con FH hanno riferito un insoddisfacente controllo della sintomatologia.

Tabella 1: Caratteristiche demografiche e cliniche dei pazienti con malattia da reflusso non-erosiva (NERD) e pirosi funzionale (FH)

	NERD (22)	FH (26)	p
Età media (anni)	51.2 (±14.9)	48.2 (±14.5)	0.484
Maschi/Femmine	12/10	10/16	0.265
BMI medio	24.8 (±3.8)	23 (±2.5)	0.055
Fumatori (%)	31.8	34.6	0.654
Alcol (> 2U/die) (%)	22.7	19.2	0.488
Caffè (> 2/die) (%)	54.5	53.8	0.887
Ernia iatale (n)	14	10	0.082
Risposta a PPI (%)	77 (±5)	23 (±10)	0.0001

Legenda: BMI, body mass index; PPI, inibitori di pompa protonica

Esami di fisiopatologia

Gli studi di HRM, incluso il test con MRS, e di MII-pH sono stati eseguiti con successo da tutti i pazienti in assenza di errori tecnici. I 48 pazienti selezionati non hanno presentato alterazioni della motilità esofagea (considerando 10 WS) e i valori pressori dell'EGJ sono sempre rientrati nei limiti fisiologici. In particolare, i pazienti con NERD e FH hanno registrato simili risultati

durante lo studio HRM, sia per quanto riguarda la pressione dell'EGJ (basale e massima) che il DCI delle WS.

Come da definizione, l'AET medio e il numero di reflussi erano più alti nei pazienti NERD rispetto al gruppo FH ($p<0.0001$). I valori di BI e del PSPW index sono risultati più bassi nei pazienti con NERD rispetto ai soggetti con diagnosi di FH ($p<0.0001$). I principali risultati ottenuti dalla MII-pH sono mostrati in Tabella 2.

Nell'ulteriore analisi dei nostri dati, è interessante sottolineare che l'inibizione durante MRS è rimasta intatta sia nel corpo esofageo che a livello del LES in tutti i pazienti, tuttavia il DCI della contrazione dell'MRS era più alto nei pazienti FH rispetto ai NERD ($p<0.05$) (Figura 10). Per quantificare in modo più preciso la risposta dell'MRS, è stato calcolato il rapporto MRS/WS per ciascun soggetto e poi è stata valutata la media in ciascun gruppo. Fisiologicamente, è atteso un aumento della contrazione rappresentato da un rapporto > 1.0 . Similmente a quanto registrato per il DCI, anche il rapporto MRS/WS era più alto nei pazienti FH (1.8 e 0.9, rispettivamente nei pazienti FH e NERD; $p<0.0001$). I principali risultati ottenuti dalla HRM sono mostrati in Tabella 3.

Il DCI dell'MRS era inversamente correlato con l'AET ($r = -0.382$; $p=0.03$) e direttamente sia con i valori di BI ($r = 0.432$; $p=0.01$) che con il PSPW index ($r = 0.429$; $p=0.01$). Il rapporto MRS/WS era inversamente correlato con l'AET ($r = -0.828$; $p<0.0001$) e direttamente correlato sia con i valori di BI ($r = 0.854$; $p<0.0001$) (Figura 9) che con il PSPW index ($r = 0.787$; $p<0.0001$).

Tabella 2: Principali risultati ottenuti dallo studio di pH-impedenziometria multicanale in pazienti con malattia da reflusso non-erosiva (NERD) e piroso funzionale (FH)

	NERD (22)	FH (26)	p
AET (%)	6.7 (\pm 3.3)	0.9 (\pm 0.8)	0.0001
Reflussi totali (n)	77.7 (\pm 31.8)	29 (\pm 10.1)	0.0001
Reflussi prossimali (n)	33.6 (\pm 12.7)	10.5 (\pm 4.5)	0.0001
Reflussi acidi (n)	51.3 (\pm 22.6)	15.6 (\pm 6)	0.0001
Tempo di esposizione reflusso (%)	3.2 (\pm 3.1)	0.6 (\pm 0.3)	0.0001
Impedenza basale (Ω)	1167.1 (\pm 381)	3625.4 (\pm 544.2)	0.0001
PSPW index (%)	38 (\pm 5.6)	77.4 (\pm 6.1)	0.0001

Legenda: AET, tempo di esposizione dell'esofago all'acido; PSPW, post-reflux swallow-induced peristaltic wave

Tabella 3: Principali risultati ottenuti dallo studio di manometria esofagea ad alta risoluzione in pazienti con malattia da reflusso non-erosiva (NERD) e piroso funzionale (FH)

	NERD (22)	FH (26)	p
Pressione basale LES (mmHg)	16.4 (\pm 11.7)	18.2 (\pm 11)	0.585
Pressione massima LES (mmHg)	25.6 (\pm 14.4)	29.9 (\pm 11.2)	0.250
IRP medio (mmHg)	10.4 (\pm 3.7)	7.9 (\pm 3.5)	0.156
DL media (s)	6.8 (\pm 1)	6.6 (\pm 1)	0.493
DCI medio WS (mmHg*cm*s)	1342.4 (\pm 801.3)	1404.3 (\pm 972.6)	0.813
DCI medio MRS (mmHg*cm*s)	1268.1 (\pm 833.2)	2264.8 (\pm 1411.9)	0.005
MRS/WS	0.9 (\pm 0.2)	1.8 (\pm 0.8)	0.0001

Legenda: LES, sfintere esofageo inferiore; IRP, pressione integrata di rilasciamneto; DL, distal latency; DCI, integrale di contrazione distale; WS, deglutizioni di acqua; MRS, test con deglutizioni rapide multiple

Figura 9: Rappresentazione grafica della correlazione diretta fra il rapporto dell'integrale di contrazione distale (DCI) del test con deglutizioni rapide multiple (MRS) e quello delle deglutizioni di acqua (WS) (MRS/WS) e i valori basali di impedenza nei pazienti con malattia da reflusso non-erosiva (NERD) e pirosi funzionale (FH)

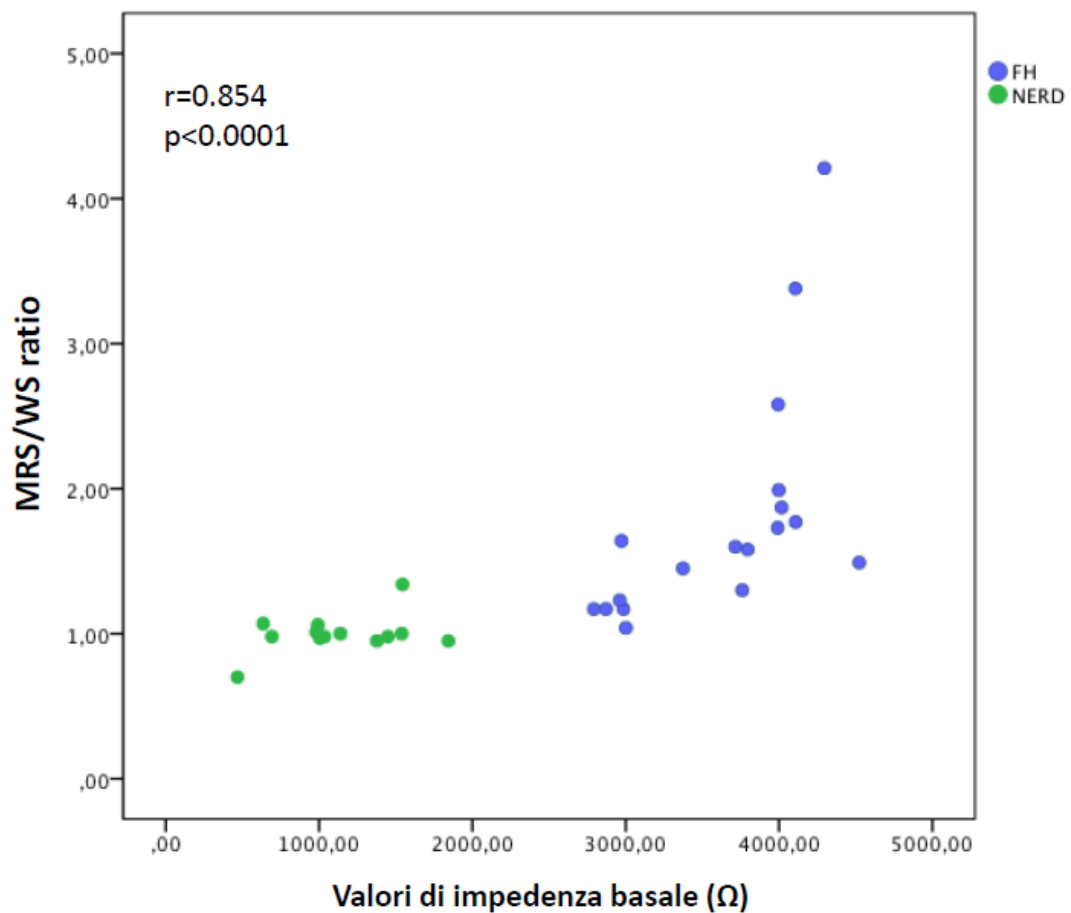
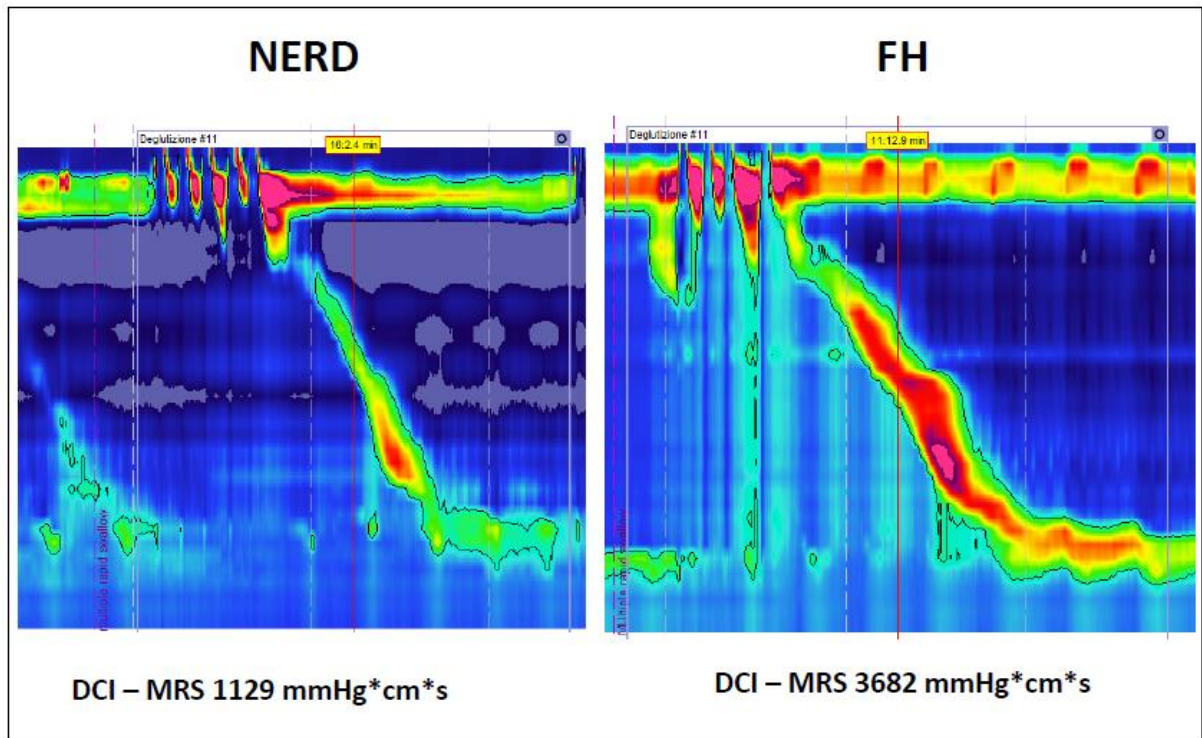


Figura 10: Esempio di calcolo dell'integrale di contrazione distale (DCI) del test con deglutizioni rapide multiple (MRS) in pazienti con malattia da reflusso non-erosiva (NERD) e pirosi funzionale (FH)



DISCUSSIONE

Il presente studio ha valutato l'ipotesi secondo cui pazienti con NERD e AET patologico possano essere caratterizzati da alterata risposta motoria dell'esofago a test di stimolo rispetto a pazienti con FH, considerati come controlli. Sulla base dei dati ottenuti con il test provocativo a basso volume (MRS), i pazienti NERD hanno effettivamente mostrato una risposta contrattile ridotta rispetto ai pazienti con FH, incluso il rapporto MRS/WS. Inoltre, la rilevanza clinica di tale osservazione è stata testata comparando l'associazione fra la presenza di disfunzione peristaltica dell'MRS, valutata con HRM, e importanti parametri clinici valutati con MII-pH. I dati ottenuti hanno evidenziato come la forza della risposta contrattile dell'MRS, analogamente al rapporto MRS/WS, presenti una correlazione inversa con l'AET e una forte correlazione diretta con i valori di BI e con il PSPW index.

Evidenze crescenti hanno sottolineato come l'esecuzione di test provocativi durante la HRM faciliti la descrizione e interpretazione della motilità esofagea nel suo complesso, slatentizzando alterazioni non specifiche altrimenti non diagnosticabili.^{84,85} Utilizzando come test provocativo l'esecuzione di deglutizioni multiple di acqua (200 ml di acqua da bere entro 30 s), Daum et al.⁹⁸ hanno dimostrato che una normale risposta della funzione esofagea ad un carico di lavoro aumentato è preservata in pazienti NERD ma risulta spesso assente in pazienti ERD. Questo dato sottolinea come la scarsa clearance del reflusso acido in pazienti GERD possa determinare lo sviluppo di esofagite. Recentemente, considerando che in assenza di alterazioni maggiori della motilità lo studio HRM con deglutizioni liquide raramente evidenzia le cause di sintomi esofagei, Sweis et al.¹⁰⁶ hanno presentato una metodologia di studio per valutare la motilità esofagea sia rispetto a deglutizioni multiple di acqua che a pasto standardizzato in pazienti con GERD, FH (definiti solo su base pH-metrica) e volontari sani. Dopo l'assunzione di 200 ml di acqua con deglutizioni ripetute senza interruzione, è stata registrata una contrazione efficace nella maggior parte dei volontari sani ma solo in una minoranza dei pazienti con GERD o FH. L'assunzione del pasto è stata associata con un maggior numero di deglutizioni inefficaci nei

pazienti rispetto ai volontari sani. In confronto all'esame eseguito con sole deglutizioni liquide, la classificazione manometrica è risultata alterata nel 67% dei pazienti per le osservazioni fatte con il test del pasto. Inoltre, il 75% dei pazienti aveva un'associazione positiva fra sintomi e disfunzioni esofagee emerse post-stimolazione. Questi dati dimostrano quindi che le misurazioni della HRM durante i test di stimolo sono più sensibili nell'identificare alterazioni clinicamente rilevanti.¹⁰⁶

Il nostro studio utilizza il test provocativo a basso volume, MRS, che stima l'integrità neuromuscolare valutando l'inibizione post-deglutitiva e la contrazione esofagea di rebound. La scelta di questo test è stata determinata dalla facilità di standardizzazione della procedura per l'operatore, dall'esecuzione in un periodo di tempo relativamente corto, dalla tolleranza al test da parte del paziente e dalla sua facile interpretazione.⁸⁶ Price e collaboratori¹⁰⁷ hanno recentemente dimostrato la riproducibilità di sequenziali test provocativi con MRS, eseguiti sia in volontari sani che in pazienti con sintomi esofagei o candidati a eventuale chirurgia antireflusso. Gli autori hanno evidenziato che i disturbi maggiori della motilità esofagea presentavano il più alto tasso di riproducibilità del test. Le manometrie eseguite in individui sintomatici considerate "normali" hanno dimostrato una discordanza di circa il 30% fra due sequenze di MRS, suggerendo che alterazioni motorie latenti non sono evidenti in un protocollo standard di manometria.¹⁰⁷ Riguardo l'importanza di questo test provocativo nella pratica clinica, è stato dimostrato che la mancanza di incremento nella contrazione della muscolatura liscia dopo MRS è associata con lo sviluppo tardivo di disfagia in pazienti sottoposti a intervento di chirurgia antireflusso, suggerendo, quindi, che il test con MRS possa valutare la riserva peristaltica della muscolatura liscia dell'esofago.^{100,102} Ulteriori ricerche sono comunque necessarie per stabilire il grado di alterazione della motilità in risposta a MRS che dovrebbe allertare i chirurghi sulla possibilità di complicazioni post-operatorie.

Nell'analisi dei dati ottenuti nel nostro studio, la risposta dell'MRS è stata caratterizzata utilizzando il DCI che prende in considerazione la durata, lunghezza e ampiezza del segmento

di contrazione e, quindi, ritrae accuratamente il vigore della contrazione della muscolatura liscia dell'esofago. In particolare, Shaker et al.¹⁰² hanno rilevato che il DCI della contrazione esofagea nella sequenza dopo MRS aumenta di circa due volte nei controlli sani. Considerando tale assunzione, i nostri risultati evidenziano un incremento doppio del DCI fra MRS e WS nei pazienti con FH ma non nei pazienti con NERD e AET patologico, in cui il DCI dell'MRS risulta invece lievemente ridotto rispetto al DCI medio delle WS. In particolare, il rapporto MRS/WS è più alto nel gruppo di pazienti con FH. È possibile quindi concludere che il gruppo di pazienti FH ha una risposta motoria a stimolo provocativo paragonabile a quella di volontari sani asintomatici, mentre il gruppo di pazienti NERD presenta una riduzione rispetto ai valori attesi che rappresenta una riserva funzionale motoria subottimale.

In accordo a recenti evidenze in ambito di GERD, è emersa l'importanza di due nuovi parametri fisiopatologici che permettono di incrementare la sensibilità diagnostica della MII-pH: i valori di BI, che riflettono lo stato della mucosa esofagea e quindi permettono di studiare il ruolo delle alterazioni dell'integrità della mucosa e dell'aumentata sensibilità all'acido, e il PSPW index, che valuta l'efficacia della clearance chimica.^{56,59} Riguardo quest'ultimo indice, Frazzoni et al.⁵⁶ hanno dimostrato che le alterazioni della clearance chimica rappresentano un meccanismo fisiopatologico primario specifico della GERD; infatti, il PSPW index non viene alterato dalla terapia medica o chirurgica, e mostra un'alta accuratezza diagnostica nel distinguere pazienti con o senza GERD. In particolare, considerando che le alterazioni fisiopatologiche della GERD incrementano in parallelo con la severità della malattia, è stata dimostrata una progressiva riduzione dei valori di BI e del PSPW index dai volontari sani e pazienti con FH a pazienti con esofago ipersensibile, fino poi a NERD ed infine ERD.^{56,59,61} In linea con queste osservazioni, è stata evidenziata una correlazione negativa fra AET e BI, e una correlazione diretta fra BI e PSPW index.^{54,55} In questo contesto, i dati ottenuti nel presente studio hanno evidenziato come la forza della risposta contrattile dell'MRS, analogamente al rapporto MRS/WS, presenti una correlazione inversa con l'AET e una forte correlazione diretta con i valori di BI e con il PSPW

index. Questi dati, quindi, supportano la rilevanza delle alterazioni motorie dell'esofago nella fisiopatologia della GERD.

Il nostro studio presenta alcune limitazioni. Innanzitutto, la mancanza di un gruppo di volontari sani asintomatici che possa confermare i valori di MRS rilevati nei pazienti FH, usati come controllo. Inoltre, aumentare la numerosità del campione potrà permettere di rafforzare i risultati evidenziati. Infine, potrebbe essere interessante includere, in futuro, altre sottocategorie della GERD (sia soggetti con ERD che soggetti con esofago ipersensibile) per confermare se esiste una stratificazione della riduzione della riserva funzionale contrattile dopo test di stimolo con MRS.

In conclusione, le caratteristiche della motilità esofagea necessarie ad ottenere un efficace trasporto del bolo includono: (i) normale rilasciamento dell'EGJ, (ii) fronte contrattile continuo e peristaltico lungo l'esofago, e (iii) adeguata pressione di contrazione. Una contrazione ben coordinata con queste proprietà crea un gradiente pressorio esofago-gastrico positivo e determina una efficace clearance fisica.⁸³ Contrariamente, una peristalsi assente o incompleta risulta invariabilmente in una alterazione della clearance esofagea.¹⁰⁸ Tuttavia, nei pazienti con GERD, alterazioni della motilità aspecifiche sono spesso incostanti e necessitano di essere slatentizzate con test provocativi.¹⁰⁶ Una risposta alterata a "stimolazioni fisiologiche" può essere clinicamente più rilevante rispetto ai dati ottenuti durante deglutizioni di acqua che richiedono un piccolo lavoro all'esofago, specialmente in posizione supina dove la gravità è spesso sufficiente, in soggetti sani, per un efficiente trasporto del fluido. Nel nostro studio abbiamo arruolato pazienti con piroso retrosternale ed endoscopia negativa che non presentavano alterazioni motorie allo studio HRM eseguito secondo protocollo standard. In dettaglio, il gruppo di pazienti con NERD e quello con FH hanno presentato risultati simili sia per quanto riguarda la pressione dell'EGJ che il DCI delle WS. Tuttavia, è stata osservata una risposta efficace all'incremento del carico di lavoro dell'esofago (MRS) in pazienti con FH e, invece, ridotta in pazienti con NERD e AET patologico. Osservazioni dirette tramite risonanza

magnetica dinamica suggeriscono che il volume del reflusso sia più grande dei boli standard di 5-10 ml di acqua.¹⁰⁹ Perciò, è verosimile ipotizzare che la risposta spontanea dell'esofago a eventi di reflusso sia più simile a quella osservata con il test di MRS che non con le WS. In linea con tale ipotesi, abbiamo evidenziato che i pazienti con NERD e AET patologico, rispetto a quelli con FH considerati come controlli, hanno sia una forza ridotta della risposta contrattile dell'MRS che valori inferiori di BI e PSPW index. Inoltre, abbiamo dimostrato come la riserva funzionale motoria dell'esofago presenti una correlazione inversa con l'esposizione acida e una forte correlazione diretta con i valori che esprimono lo stato di integrità della mucosa e l'efficacia di clearance chimica.

L'inclusione dell'MRS nel protocollo standard degli studi di HRM è semplice ed economico, e permette di incrementare la capacità di riconoscere disfunzioni esofagee rilevanti in pazienti con GERD. In particolare, se i dati del presente studio saranno confermati su casistiche più ampie, l'utilizzo dei test provocativi a basso volume potrebbe rappresentare un mezzo per identificare, fra i pazienti con pirosi retrosternale ed endoscopia negativa, coloro che tendono a presentare un'esposizione patologica all'acido e che hanno maggior rischio di sviluppare deficit di peristalsi.

BIBLIOGRAFIA

1. Vakil N, van Zanten SV, Kahrilas P, Dent J, Jones R, Global Consensus G. The Montreal definition and classification of gastroesophageal reflux disease: a global evidence-based consensus. *The American journal of gastroenterology* 2006;101:1900-20; quiz 43.
2. Modlin IM, Hunt RH, Malfertheiner P, et al. Diagnosis and management of non-erosive reflux disease--the Vevey NERD Consensus Group. *Digestion* 2009;80:74-88.
3. Orr WC. Review article: sleep-related gastro-oesophageal reflux as a distinct clinical entity. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 2010;31:47-56.
4. Galmiche JP, Clouse RE, Balint A, et al. Functional esophageal disorders. *Gastroenterology* 2006;130:1459-65.
5. El-Serag HB, Sweet S, Winchester CC, Dent J. Update on the epidemiology of gastro-oesophageal reflux disease: a systematic review. *Gut* 2014;63:871-80.
6. Boeckxstaens G, El-Serag HB, Smout AJ, Kahrilas PJ. Symptomatic reflux disease: the present, the past and the future. *Gut* 2014;63:1185-93.
7. Cook MB, Chow WH, Devesa SS. Oesophageal cancer incidence in the United States by race, sex, and histologic type, 1977-2005. *British journal of cancer* 2009;101:855-9.
8. Castell DO, Murray JA, Tutuian R, Orlando RC, Arnold R. Review article: the pathophysiology of gastro-oesophageal reflux disease - oesophageal manifestations. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 2004;20 Suppl 9:14-25.
9. Bredenoord AJ, Hemmink GJ, Smout AJ. Relationship between gastro-oesophageal reflux pattern and severity of mucosal damage. *Neurogastroenterology and motility : the official journal of the European Gastrointestinal Motility Society* 2009;21:807-12.
10. Savarino E, Zentilin P, Frazzoni M, et al. Characteristics of gastro-esophageal reflux episodes in Barrett's esophagus, erosive esophagitis and healthy volunteers.

Neurogastroenterology and motility : the official journal of the European Gastrointestinal Motility Society 2010;22:1061-e280.

11. Bredenoord AJ, Pandolfino JE, Smout AJ. Gastro-oesophageal reflux disease. *Lancet* 2013;381:1933-42.
12. Goyal RK, Rattan S. Genesis of basal sphincter pressure: effect of tetrodotoxin on lower esophageal sphincter pressure in opossum in vivo. *Gastroenterology* 1976;71:62-7.
13. Mittal RK, Holloway RH, Penagini R, Blackshaw LA, Dent J. Transient lower esophageal sphincter relaxation. *Gastroenterology* 1995;109:601-10.
14. Pandolfino JE, Kim H, Ghosh SK, Clarke JO, Zhang Q, Kahrilas PJ. High-resolution manometry of the EGJ: an analysis of crural diaphragm function in GERD. *The American journal of gastroenterology* 2007;102:1056-63.
15. Mittal RK, Rochester DF, McCallum RW. Sphincteric action of the diaphragm during a relaxed lower esophageal sphincter in humans. *The American journal of physiology* 1989;256:G139-44.
16. Mittal RK, Fisher MJ. Electrical and mechanical inhibition of the crural diaphragm during transient relaxation of the lower esophageal sphincter. *Gastroenterology* 1990;99:1265-8.
17. Hill LD, Kozarek RA, Kraemer SJ, et al. The gastroesophageal flap valve: in vitro and in vivo observations. *Gastrointestinal endoscopy* 1996;44:541-7.
18. Kahrilas PJ, Lin S, Chen J, Manka M. The effect of hiatus hernia on gastro-oesophageal junction pressure. *Gut* 1999;44:476-82.
19. Mittal RK, Balaban DH. The esophagogastric junction. *The New England journal of medicine* 1997;336:924-32.
20. Kahrilas PJ, Kim HC, Pandolfino JE. Approaches to the diagnosis and grading of hiatal hernia. *Best practice & research Clinical gastroenterology* 2008;22:601-16.

21. Singh P, Adamopoulos A, Taylor RH, Colin-Jones DG. Oesophageal motor function before and after healing of oesophagitis. *Gut* 1992;33:1590-6.
22. Kahrilas PJ, Dodds WJ, Hogan WJ, Kern M, Arndorfer RC, Reece A. Esophageal peristaltic dysfunction in peptic esophagitis. *Gastroenterology* 1986;91:897-904.
23. Kahrilas PJ, Dodds WJ, Hogan WJ. Effect of peristaltic dysfunction on esophageal volume clearance. *Gastroenterology* 1988;94:73-80.
24. Fass R. Erosive esophagitis and nonerosive reflux disease (NERD): comparison of epidemiologic, physiologic, and therapeutic characteristics. *Journal of clinical gastroenterology* 2007;41:131-7.
25. Frazzoni M, Manno M, De Micheli E, Savarino V. Pathophysiological characteristics of the various forms of gastro-oesophageal reflux disease. Spectrum disease or distinct phenotypic presentations? *Digestive and liver disease : official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver* 2006;38:643-8.
26. Savarino E, Gemignani L, Pohl D, et al. Oesophageal motility and bolus transit abnormalities increase in parallel with the severity of gastro-oesophageal reflux disease. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 2011;34:476-86.
27. Penagini R, Bravi I. The role of delayed gastric emptying and impaired oesophageal body motility. *Best practice & research Clinical gastroenterology* 2010;24:831-45.
28. Stacher G, Lenglinger J, Bergmann H, et al. Gastric emptying: a contributory factor in gastro-oesophageal reflux activity? *Gut* 2000;47:661-6.
29. Pandolfino JE, El-Serag HB, Zhang Q, Shah N, Ghosh SK, Kahrilas PJ. Obesity: a challenge to esophagogastric junction integrity. *Gastroenterology* 2006;130:639-49.
30. Veugelers PJ, Porter GA, Guernsey DL, Casson AG. Obesity and lifestyle risk factors for gastroesophageal reflux disease, Barrett esophagus and esophageal adenocarcinoma. *Diseases of the esophagus : official journal of the International Society for Diseases of the Esophagus / ISDE* 2006;19:321-8.

31. Derakhshan MH, Robertson EV, Fletcher J, et al. Mechanism of association between BMI and dysfunction of the gastro-oesophageal barrier in patients with normal endoscopy. *Gut* 2012;61:337-43.
32. Fletcher J, Wirz A, Young J, Vallance R, McColl KE. Unbuffered highly acidic gastric juice exists at the gastroesophageal junction after a meal. *Gastroenterology* 2001;121:775-83.
33. Beaumont H, Bennink RJ, de Jong J, Boeckxstaens GE. The position of the acid pocket as a major risk factor for acidic reflux in healthy subjects and patients with GORD. *Gut* 2010;59:441-51.
34. Pandolfino JE, Zhang Q, Ghosh SK, Post J, Kwiatek M, Kahrilas PJ. Acidity surrounding the squamocolumnar junction in GERD patients: "acid pocket" versus "acid film". *The American journal of gastroenterology* 2007;102:2633-41.
35. Woodland P, Sifrim D. The refluxate: The impact of its magnitude, composition and distribution. *Best practice & research Clinical gastroenterology* 2010;24:861-71.
36. Martinez SD, Malagon IB, Garewal HS, Cui H, Fass R. Non-erosive reflux disease (NERD)--acid reflux and symptom patterns. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 2003;17:537-45.
37. Emerenziani S, Sifrim D, Habib FI, et al. Presence of gas in the refluxate enhances reflux perception in non-erosive patients with physiological acid exposure of the oesophagus. *Gut* 2008;57:443-7.
38. Weusten BL, Akkermans LM, vanBerge-Henegouwen GP, Smout AJ. Symptom perception in gastroesophageal reflux disease is dependent on spatiotemporal reflux characteristics. *Gastroenterology* 1995;108:1739-44.
39. Cicala M, Emerenziani S, Caviglia R, et al. Intra-oesophageal distribution and perception of acid reflux in patients with non-erosive gastro-oesophageal reflux disease. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 2003;18:605-13.

40. Tutuian R, Vela MF, Hill EG, Mainie I, Agrawal A, Castell DO. Characteristics of symptomatic reflux episodes on Acid suppressive therapy. *The American journal of gastroenterology* 2008;103:1090-6.
41. Zerbib F, Duriez A, Roman S, Capdepon M, Mion F. Determinants of gastro-oesophageal reflux perception in patients with persistent symptoms despite proton pump inhibitors. *Gut* 2008;57:156-60.
42. Farre R, Fornari F, Blondeau K, et al. Acid and weakly acidic solutions impair mucosal integrity of distal exposed and proximal non-exposed human oesophagus. *Gut* 2010;59:164-9.
43. Caviglia R, Ribolsi M, Gentile M, et al. Dilated intercellular spaces and acid reflux at the distal and proximal oesophagus in patients with non-erosive gastro-oesophageal reflux disease. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 2007;25:629-36.
44. van Malenstein H, Farre R, Sifrim D. Esophageal dilated intercellular spaces (DIS) and nonerosive reflux disease. *The American journal of gastroenterology* 2008;103:1021-8.
45. Bredenoord AJ, Weusten BL, Timmer R, Smout AJ. Characteristics of gastroesophageal reflux in symptomatic patients with and without excessive esophageal acid exposure. *The American journal of gastroenterology* 2006;101:2470-5.
46. Trimble KC, Pryde A, Heading RC. Lowered oesophageal sensory thresholds in patients with symptomatic but not excess gastro-oesophageal reflux: evidence for a spectrum of visceral sensitivity in GORD. *Gut* 1995;37:7-12.
47. Hemmink GJ, Bredenoord AJ, Weusten BL, Timmer R, Smout AJ. Does acute psychological stress increase perception of oesophageal acid? *Neurogastroenterology and motility : the official journal of the European Gastrointestinal Motility Society* 2009;21:1055-e86.
48. Knowles CH, Aziz Q. Visceral hypersensitivity in non-erosive reflux disease. *Gut* 2008;57:674-83.

49. Guarino MP, Cheng L, Ma J, et al. Increased TRPV1 gene expression in esophageal mucosa of patients with non-erosive and erosive reflux disease. *Neurogastroenterology and motility : the official journal of the European Gastrointestinal Motility Society* 2010;22:746-51, e219.
50. Bredenoord AJ, Tutuian R, Smout AJ, Castell DO. Technology review: Esophageal impedance monitoring. *The American journal of gastroenterology* 2007;102:187-94.
51. Fass J, Silny J, Braun J, et al. Measuring esophageal motility with a new intraluminal impedance device. First clinical results in reflux patients. *Scandinavian journal of gastroenterology* 1994;29:693-702.
52. Zentilin P, Dulbecco P, Savarino E, Giannini E, Savarino V. Combined multichannel intraluminal impedance and pH-metry: a novel technique to improve detection of gastro-oesophageal reflux literature review. *Digestive and liver disease : official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver* 2004;36:565-9.
53. Sifrim D. Acid, weakly acidic and non-acid gastro-oesophageal reflux: differences, prevalence and clinical relevance. *European journal of gastroenterology & hepatology* 2004;16:823-30.
54. Kessing BF, Bredenoord AJ, Weijenberg PW, Hemmink GJ, Loots CM, Smout AJ. Esophageal acid exposure decreases intraluminal baseline impedance levels. *The American journal of gastroenterology* 2011;106:2093-7.
55. Martinucci I, de Bortoli N, Savarino E, et al. Esophageal baseline impedance levels in patients with pathophysiological characteristics of functional heartburn. *Neurogastroenterology and motility : the official journal of the European Gastrointestinal Motility Society* 2014.
56. Frazzoni M, Manta R, Mirante VG, Conigliaro R, Frazzoni L, Melotti G. Esophageal chemical clearance is impaired in gastro-esophageal reflux disease--a 24-h impedance-pH

monitoring assessment. *Neurogastroenterology and motility : the official journal of the European Gastrointestinal Motility Society* 2013;25:399-406, e295.

57. Farre R, Blondeau K, Clement D, et al. Evaluation of oesophageal mucosa integrity by the intraluminal impedance technique. *Gut* 2011;60:885-92.

58. Heard R, Castell J, Castell DO, Pohl D. Characterization of patients with low baseline impedance on multichannel intraluminal impedance-pH reflux testing. *Journal of clinical gastroenterology* 2012;46:e55-7.

59. de Bortoli N, Martinucci I, Savarino E, et al. Association between baseline impedance values and response proton pump inhibitors in patients with heartburn. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association* 2015;13:1082-8 e1.

60. Ribolsi M, Emerenziani S, Borrelli O, et al. Impedance baseline and reflux perception in responder and non-responder non-erosive reflux disease patients. *Scandinavian journal of gastroenterology* 2012;47:1266-73.

61. Kandulski A, Weigt J, Caro C, Jechorek D, Wex T, Malfertheiner P. Esophageal intraluminal baseline impedance differentiates gastroesophageal reflux disease from functional heartburn. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association* 2015;13:1075-81.

62. Savarino E, Zentilin P, Savarino V. NERD: an umbrella term including heterogeneous subpopulations. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology* 2013;10:371-80.

63. Numans ME, Lau J, de Wit NJ, Bonis PA. Short-term treatment with proton-pump inhibitors as a test for gastroesophageal reflux disease: a meta-analysis of diagnostic test characteristics. *Annals of internal medicine* 2004;140:518-27.

64. Dent J, Vakil N, Jones R, et al. Accuracy of the diagnosis of GORD by questionnaire, physicians and a trial of proton pump inhibitor treatment: the Diamond Study. *Gut* 2010;59:714-

21.

65. Bytzer P, Jones R, Vakil N, et al. Limited ability of the proton-pump inhibitor test to identify patients with gastroesophageal reflux disease. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association* 2012;10:1360-6.
66. Sifrim D, Castell D, Dent J, Kahrilas PJ. Gastro-oesophageal reflux monitoring: review and consensus report on detection and definitions of acid, non-acid, and gas reflux. *Gut* 2004;53:1024-31.
67. Savarino E, Zentilin P, Tutuian R, et al. The role of nonacid reflux in NERD: lessons learned from impedance-pH monitoring in 150 patients off therapy. *The American journal of gastroenterology* 2008;103:2685-93.
68. Savarino E, Marabotto E, Zentilin P, et al. The added value of impedance-pH monitoring to Rome III criteria in distinguishing functional heartburn from non-erosive reflux disease. *Digestive and liver disease : official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver* 2011;43:542-7.
69. Fass R, Fennerty MB, Ofman JJ, et al. The clinical and economic value of a short course of omeprazole in patients with noncardiac chest pain. *Gastroenterology* 1998;115:42-9.
70. Poh CH, Gasiorowska A, Navarro-Rodriguez T, et al. Upper GI tract findings in patients with heartburn in whom proton pump inhibitor treatment failed versus those not receiving antireflux treatment. *Gastrointestinal endoscopy* 2010;71:28-34.
71. Sifrim D, Zerbib F. Diagnosis and management of patients with reflux symptoms refractory to proton pump inhibitors. *Gut* 2012;61:1340-54.
72. Mainie I, Tutuian R, Shay S, et al. Acid and non-acid reflux in patients with persistent symptoms despite acid suppressive therapy: a multicentre study using combined ambulatory impedance-pH monitoring. *Gut* 2006;55:1398-402.

73. Zerbib F, Roman S, Ropert A, et al. Esophageal pH-impedance monitoring and symptom analysis in GERD: a study in patients off and on therapy. *The American journal of gastroenterology* 2006;101:1956-63.
74. Bravi I, Woodland P, Gill RS, Al-Zinaty M, Bredenoord AJ, Sifrim D. Increased prandial air swallowing and postprandial gas-liquid reflux among patients refractory to proton pump inhibitor therapy. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association* 2013;11:784-9.
75. Bredenoord AJ, Weusten BL, Sifrim D, Timmer R, Smout AJ. Aerophagia, gastric, and supragastric belching: a study using intraluminal electrical impedance monitoring. *Gut* 2004;53:1561-5.
76. Kessing BF, Bredenoord AJ, Velosa M, Smout AJ. Supragastric belches are the main determinants of troublesome belching symptoms in patients with gastro-oesophageal reflux disease. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 2012;35:1073-9.
77. Hemmink GJ, Ten Cate L, Bredenoord AJ, Timmer R, Weusten BL, Smout AJ. Speech therapy in patients with excessive supragastric belching--a pilot study. *Neurogastroenterology and motility : the official journal of the European Gastrointestinal Motility Society* 2010;22:24-8, e2-3.
78. Kelley ML, Jr. Intraluminal esophageal manometry. *JAMA : the journal of the American Medical Association* 1967;202:537.
79. Clouse RE, Staiano A. Topography of the esophageal peristaltic pressure wave. *The American journal of physiology* 1991;261:G677-84.
80. Fox MR, Bredenoord AJ. Oesophageal high-resolution manometry: moving from research into clinical practice. *Gut* 2008;57:405-23.
81. Sifrim D, Janssens J, Vantrappen G. A wave of inhibition precedes primary peristaltic contractions in the human esophagus. *Gastroenterology* 1992;103:876-82.

82. Bredenoord AJ, Hebbard GS. Technical aspects of clinical high-resolution manometry studies. *Neurogastroenterology and motility : the official journal of the European Gastrointestinal Motility Society* 2012;24 Suppl 1:5-10.
83. Pandolfino JE, Fox MR, Bredenoord AJ, Kahrilas PJ. High-resolution manometry in clinical practice: utilizing pressure topography to classify oesophageal motility abnormalities. *Neurogastroenterology and motility : the official journal of the European Gastrointestinal Motility Society* 2009;21:796-806.
84. Basseri B, Pimentel M, Shaye OA, Low K, Soffer EE, Conklin JL. Apple sauce improves detection of esophageal motor dysfunction during high-resolution manometry evaluation of dysphagia. *Digestive diseases and sciences* 2011;56:1723-8.
85. Gyawali CP, Bredenoord AJ, Conklin JL, et al. Evaluation of esophageal motor function in clinical practice. *Neurogastroenterology and motility : the official journal of the European Gastrointestinal Motility Society* 2013;25:99-133.
86. Fornari F, Bravi I, Penagini R, Tack J, Sifrim D. Multiple rapid swallowing: a complementary test during standard oesophageal manometry. *Neurogastroenterology and motility : the official journal of the European Gastrointestinal Motility Society* 2009;21:718-e41.
87. Kahrilas PJ, Ghosh SK, Pandolfino JE. Esophageal motility disorders in terms of pressure topography: the Chicago Classification. *Journal of clinical gastroenterology* 2008;42:627-35.
88. Pandolfino JE, Sifrim D. Evaluation of esophageal contractile propagation using esophageal pressure topography. *Neurogastroenterology and motility : the official journal of the European Gastrointestinal Motility Society* 2012;24 Suppl 1:20-6.
89. Bredenoord AJ, Fox M, Kahrilas PJ, et al. Chicago classification criteria of esophageal motility disorders defined in high resolution esophageal pressure topography.

Neurogastroenterology and motility : the official journal of the European Gastrointestinal Motility Society 2012;24 Suppl 1:57-65.

90. Kahrilas PJ, Bredenoord AJ, Fox M, et al. The Chicago Classification of esophageal motility disorders, v3.0. Neurogastroenterology and motility : the official journal of the European Gastrointestinal Motility Society 2015;27:160-74.

91. Fox M, Hebbard G, Janiak P, et al. High-resolution manometry predicts the success of oesophageal bolus transport and identifies clinically important abnormalities not detected by conventional manometry. Neurogastroenterology and motility : the official journal of the European Gastrointestinal Motility Society 2004;16:533-42.

92. Roman S, Lin Z, Kwiatek MA, Pandolfino JE, Kahrilas PJ. Weak peristalsis in esophageal pressure topography: classification and association with Dysphagia. The American journal of gastroenterology 2011;106:349-56.

93. Martinucci I, de Bortoli N, Giacchino M, et al. Esophageal motility abnormalities in gastroesophageal reflux disease. World journal of gastrointestinal pharmacology and therapeutics 2014;5:86-96.

94. Pandolfino JE, Roman S. High-resolution manometry: an atlas of esophageal motility disorders and findings of GERD using esophageal pressure topography. Thoracic surgery clinics 2011;21:465-75.

95. Roman S, Zerbib F, Belhocine K, des Varannes SB, Mion F. High resolution manometry to detect transient lower oesophageal sphincter relaxations: diagnostic accuracy compared with perfused-sleeve manometry, and the definition of new detection criteria. Alimentary pharmacology & therapeutics 2011;34:384-93.

96. Rohof WO, Boeckxstaens GE, Hirsch DP. High-resolution esophageal pressure topography is superior to conventional sleeve manometry for the detection of transient lower esophageal sphincter relaxations associated with a reflux event. Neurogastroenterology and

motility : the official journal of the European Gastrointestinal Motility Society 2011;23:427-32, e173.

97. Bredenoord AJ, Weusten BL, Timmer R, Smout AJ. Intermittent spatial separation of diaphragm and lower esophageal sphincter favors acidic and weakly acidic reflux. *Gastroenterology* 2006;130:334-40.

98. Daum C, Sweis R, Kaufman E, et al. Failure to respond to physiologic challenge characterizes esophageal motility in erosive gastro-esophageal reflux disease. *Neurogastroenterology and motility : the official journal of the European Gastrointestinal Motility Society* 2011;23:517-e200.

99. Simren M, Silny J, Holloway R, Tack J, Janssens J, Sifrim D. Relevance of ineffective oesophageal motility during oesophageal acid clearance. *Gut* 2003;52:784-90.

100. Stoikes N, Drapekin J, Kushnir V, Shaker A, Brunt LM, Gyawali CP. The value of multiple rapid swallows during preoperative esophageal manometry before laparoscopic antireflux surgery. *Surgical endoscopy* 2012;26:3401-7.

101. Sifrim D, Jafari J. Deglutitive inhibition, latency between swallow and esophageal contractions and primary esophageal motor disorders. *Journal of neurogastroenterology and motility* 2012;18:6-12.

102. Shaker A, Stoikes N, Drapekin J, Kushnir V, Brunt LM, Gyawali CP. Multiple rapid swallow responses during esophageal high-resolution manometry reflect esophageal body peristaltic reserve. *The American journal of gastroenterology* 2013;108:1706-12.

103. Savarino E, de Bortoli N, Zentilin P, et al. Alginate controls heartburn in patients with erosive and nonerosive reflux disease. *World journal of gastroenterology : WJG* 2012;18:4371-8.

104. Zentilin P, Iiritano E, Dulbecco P, et al. Normal values of 24-h ambulatory intraluminal impedance combined with pH-metry in subjects eating a Mediterranean diet. *Digestive and liver*

disease : official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver 2006;38:226-32.

105. Savarino E, Tutuian R, Zentilin P, et al. Characteristics of reflux episodes and symptom association in patients with erosive esophagitis and nonerosive reflux disease: study using combined impedance-pH off therapy. The American journal of gastroenterology 2010;105:1053-61.

106. Sweis R, Anggiansah A, Wong T, Brady G, Fox M. Assessment of esophageal dysfunction and symptoms during and after a standardized test meal: development and clinical validation of a new methodology utilizing high-resolution manometry. Neurogastroenterology and motility : the official journal of the European Gastrointestinal Motility Society 2014;26:215-28.

107. Price LH, Li Y, Patel A, Gyawali CP. Reproducibility patterns of multiple rapid swallows during high resolution esophageal manometry provide insights into esophageal pathophysiology. Neurogastroenterology and motility : the official journal of the European Gastrointestinal Motility Society 2014;26:646-53.

108. Bulsiewicz WJ, Kahrilas PJ, Kwiatek MA, Ghosh SK, Meek A, Pandolfino JE. Esophageal pressure topography criteria indicative of incomplete bolus clearance: a study using high-resolution impedance manometry. The American journal of gastroenterology 2009;104:2721-8.

109. Curcic J, Fox M, Kaufman E, et al. Gastroesophageal junction: structure and function as assessed by using MR imaging. Radiology 2010;257:115-24.